

На правах рукописи

**Лукина Юлия Николаевна**

**ПРОБЛЕМЫ ЗДОРОВЬЯ РЫБ В ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ  
ЕВРОПЕЙСКО-СИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ ПАЛЕАРКТИКИ**

**Специальности: 03.02.08 – экология**

**03.02.06 - ихтиология**

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора  
биологических наук**

**Петрозаводск 2014**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте водных проблем Севера Карельского научного центра Российской Академии Наук

Официальные оппоненты: **Решетников Юрий Степанович** - доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН

**Болотова Наталья Львовна**  
доктор биологических наук, профессор, Вологодский государственный университет, заведующая кафедрой зоологии и экологии

**Селюков Александр Германович** - доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, Тюменский государственный университет

Ведущая организация: ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии»

Защита диссертации состоится “04” июня 2014 года в 11 часов на заседании диссертационного совета Д.212.190.01 Петрозаводского государственного университета по адресу: 1185910, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33, ПетрГУ, эколого-биологический факультет, ауд. 117 теоретического корпуса

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Петрозаводского государственного университета [www.petrso.ru](http://www.petrso.ru), с авторефератом – на сайте <http://vak.ed.gov.ru> и [www.petrso.ru](http://www.petrso.ru)

Автореферат разослан «20» апреля 2014 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
кандидат биологических наук



И.М. Дзюбук

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Постановка проблемы и ее актуальность.** Проблема загрязнения окружающей среды давно вышла за рамки региональной и приобрела в XX столетии глобальный характер. Вполне обоснованно высказывание многих ученых о том, что увеличение населения Земли, стиль жизни и уровень экологического сознания людей, совместно с развитием промышленности и сельского хозяйства являются основными факторами деградации биосферы (Кондратьев, Донченко, 1999; Матишов и др. 2003; Дмитриев, Фрумин, 2004). Сохранение биологического разнообразия – одна из ключевых задач современности, но устойчивое функционирование популяций и сообществ немислимо без здоровых жизнеспособных особей, которые определяют качество других уровней биологической организации. Поступление в водные объекты стойких загрязняющих веществ и тяжелых металлов представляет в настоящее время главную угрозу водным экосистемам в силу их биоаккумуляции и биоматнификации на более высоких трофических уровнях, вызывая появление широкого спектра заболеваний практически у всех живых организмов (Binelli, Provini, 2003; Kucklick et al., 2002; Sarkar et al., 2006; Sole et al., 2001). Очевидно, что воздействие высоко токсичных и устойчивых поллютантов на водные экосистемы следует изучать через призму биологических ответов гидробионтов, в связи с чем проблеме заболеваний живых организмов в природных экосистемах уделяется пристальное внимание во всем мире (Adams, 2002; Achuba, Osakwe, 2003; Stephensen et al., 2003; Silva, 2004; Zang et al., 2004; Avci et al., 2005; Hagger et al., 2006; Sturve et al., 2006; Khan, Billiard, 2007; Simonato et al., 2008; Pathan et al., 2010; Rascovic et al., 2010; Diniz et al., 2011). В нашей стране подобные исследования начались в 70-е и активно развивались до конца 80-х годов (Межнин, 1973; Аршаница, 1974; Леви, 1974; Кокуричева, 1974; Щербаков, Ченова, 1974; Брагинский и др., 1979; Кокуричева, 1979; Щербаков, 1979; Метелев, 1977; Аршаница, Лесников, 1987). Впоследствии научное направление, связанное с оценкой здоровья гидробионтов, носило фрагментарный характер, и наибольшие достижения в этот период были достигнуты в области биохимической индикации состояния рыб (Сидоров, Немова, 2000; Сидоров и др., 2003; Немова, Высоцкая, 2004 и др.). На современном этапе, когда уровень загрязнения многих водных экосистем достиг «критических величин», что приводит к гибели рыбы (Гераскин, 2013), в России возобновились исследования, посвященные данной проблеме (Моисеенко, 1997; Лукин и др., 2000; Моисеенко и др. 2002; Селюков, 2007, 2012; Гераскин, 2013).

Несмотря на достигнутый прогресс в познании последствий антропогенного влияния на гидробионтов (Steyermark et al., 1999; Bernet et al., 2000; Mondon et al., 2001; Triebskorn et al., 2002; Vaschenko et al., 2003; Stentiford et al., 2003; Broeg et al., 2005; Silva, Martinez, 2007; Greenfield et al., 2008; Kosa et al., 2008), работ, посвященных механизму повреждений на тканевом уровне и формированию реакций организма на загрязнение, неизмеримо меньше (Алтуфьев и др., 2003; Гераскин и др., 1996, 1997, 2012; Карпюк и др., 2005). Вместе с тем, выяснение закономерностей и причинно-следственных связей в развитии патологий, вопросы механизма и дифференциации патологических процессов представляют несомненный интерес. Актуальность исследований,

посвященных проблеме здоровья рыб, определяется не только ее диагностическими возможностями, но и прогнозированием последствий на различных уровнях организации живых систем.

**Цель работы:** установление закономерностей развития ответных реакций в организме рыб в водоемах Палеарктики на техногенное воздействие, выявление стереотипности и специфичности реакций на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях с учетом их роли в комплексной системе биоиндикации.

**Задачи исследования:**

1. Выяснить особенности накопления хлорорганических пестицидов, полихлорированных бифенилов и полициклических углеводородов в тканях рыб.
2. Оценить параметры окислительного стресса как ведущего механизма патогенеза на клеточном уровне.
3. Определить адаптивные перестройки на макромолекулярном уровне у рыб в условиях загрязнения.
4. Раскрыть механизм развития структурно-функциональных изменений в организме рыб в условиях разнотипного загрязнения, проанализировать причины и факторы, способствующие возникновению болезней.
5. Выявить стереотипность и специфичность ответных реакций рыб с учетом этиологического фактора, классифицировать и оценить их роль в комплексной системе биоиндикации водных экосистем.

**Научная новизна.** Впервые на обширной территории Палеарктики (водные объекты Кольского п-ова, Республики Карелии, Республики Коми, Архангельской области, Средней полосы России) проведен сравнительный анализ заболеваний рыб, обитающих в озерных и речных системах, испытывающих различную степень антропогенной нагрузки, в основе которого видовая принадлежность рыб, тип и продолжительность воздействия антропогенного фактора. Выявлена стереотипность и ограниченность спектра ответных реакций рыб, развивающихся независимо от этиологии и локализации. Показано, что морфофункциональные изменения в организме рыб являются следствием комплекса реакций, каскад которых запускается на молекулярно-клеточном уровне. Получены новые данные по развитию заболеваний у рыб под воздействием различного типа загрязнения, показано, что в их основе – молекулярные патологии, развивающиеся в условиях окислительного стресса. Выявлены особенности распределения стойких органических загрязняющих веществ в донных отложениях, воде и тканях, доказано, что их накопление может рассматриваться в качестве фактора риска при появлении патологических и компенсаторно-приспособительных процессов. Предложена классификация ответных реакций в организме рыб, обитающих в условиях загрязнения. Показано, что использование комплексного подхода, основанного на единстве организма и среды, повышает результативность ихтиопатологических исследований и возможности биологических маркеров для биоиндикации качества природных

водоемов. Впервые представлен атлас патологий рыб различной видовой принадлежности в водных объектах Палеарктики, испытывающих техногенное воздействие различного типа.

**Практическая значимость.** Полученные результаты могут найти широкое применение при решении многих практических задач и быть использованы в диагностических и прогностических целях. В частности в практической ихтиологии при прогнозировании возможных уловов, в аквакультуре при оценке физиологического состояния рыб, а также в качестве биологических маркеров в комплексной системе биоиндикации состояния окружающей среды. Практическую реализацию полученных результатов осуществляли через научно-исследовательские работы, посвященные а) оценке воздействия и ущерба, нанесенных промышленными предприятиями водоемам Кольского п-ова, Республики Карелии, Республики Коми, Архангельской области, Средней России; б) оценке последствий разливов нефти на ихтиофауну через 15 лет после крупномасштабной аварии на нефтепроводе в Республике Коми; в) модификации метода расчета ущерба водным биологическим ресурсам при проведении буровзрывных работ.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Каскадный принцип ответных реакций организма – основа заболеваний рыб, развивающихся в условиях загрязнения. В качестве начального звена цепи патогенетических механизмов выступает внутриклеточный уровень, молекулярные изменения обуславливают реакции клеток и тканей, которые складываются в клинко-анатомическую картину заболевания.
2. Накопление полициклических ароматических углеводов, полихлорированных бифенилов, хлорорганических пестицидов в донных отложениях, воде и тканях является фактором риска при появлении типовых и специфических ответных реакций в организме рыб.
3. Все патологические и компенсаторно-приспособительные ответные реакции в организме рыб протекают по стереотипной неспецифической схеме не зависимой от характера патогенного воздействия и локализации, включаясь в качестве патогенетического звена в заболевания. Суть стереотипных реакций заключается не в идентификации патогенного фактора, а в способности адаптироваться к изменениям в окружающей среде, выжить и обеспечить присущий организму характер функционирования.

**Апробация работы.** Основные положения работы докладывались и обсуждались на многочисленных международных, всесоюзных и российских совещаниях. Основные из них: Coregonid International Symposium on the Biology and Management of Coregonid Fishes (Rovaniemi, Finland, 2002); XXVI Международная конференция «Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера» (Сыктывкар, 2003); Международная научно-практическая конференция: Проблемы сохранения и использования биологических ресурсов (Минск, Белоруссия, 2004); Международная конференция «Экологические проблемы северных регионов и пути их решения» (Апатиты, 2004); The 7 International Symposium on Cold Region

Development. (Sapporo, Japan, 2004); Coregonid International Symposium on the Biology and Management of Coregonid Fishes (Olsztyn. Poland, 2005); Ist European Congress of Conservation Biology (Eger, Hungary, 2006); Seminar on the ConocoPhillips Arctic Environmental Program (Tromso, Norway, 2006); Международная конференция «Проблемы иммунологии, патологии, охраны здоровья рыб и других гидробионтов» (Борок, 2007); XII European Congress of Ichthyology (Cavtat, Croatia, 2007); III International Conference Arctic frontiers «Challenges for oil and gas development in the Arctic» (Tromso, Norway, 2008); Четвертая Международная конференция «Газ и нефть Арктического шельфа» (Мурманск, 2008); Международная конференция «Эко-Печора» (Нарьян-Мар, 2008); Aquatic Animal Health. III Bilateral Conference (Shewperdstown, West Virginia, USA, 2009); «Diseases of Fish and Shellfish» 14<sup>th</sup> EAAP International Conference (Prague, 2009); Water Quality International conference (Hangzhou, China, 2012); Международная российско-норвежская конференция «Исследования и освоение углеводородных ресурсов прибрежных регионов» (Архангельск, 2013); IX Северный социально-экологический конгресс с международным участием (Архангельск, 2013); Восьмая научно-производственная конференция «Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых видов рыб» (Тюмень, 2013).

**Личный вклад автора.** Автором обоснована тема, определены цель и задачи, осуществлены полевые исследования и сбор материала, выполнены патолого-морфологические и гистологические исследования (изготовление гистологических препаратов, диагностика, микрофотосъемка), обработка, обобщение и интерпретация результатов, сформулированы защищаемые положения и выводы.

**Публикации.** Результаты исследований отражены более чем в 50 публикациях, в том числе в 5 коллективных монографиях, в 16 статьях реферируемых отечественных и зарубежных журналов из списка ВАК, а также научных статьях в сборниках, препринтах и тезисах докладов на международных и всероссийских конференциях.

**Объем и структура работы.** Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения и списка литературы, содержит 40 таблиц, 43 рисунка, приложение (188 микрофотографий). Список литературы включает 605 источников, в том числе 278 отечественных и 327 зарубежных. Общий объем работы – 306 страниц.

**Благодарности.** Выражаю особую признательность за научные консультации и методологическую помощь, которую оказали член-корреспондент РАН, профессор Т.И. Моисеенко, д.б.н., профессор Ю.С. Решетников, д.б.н. Р.У. Высоцкая, д.б.н. Н.В. Ильмаст. Благодарю всех сотрудников Института водных проблем Севера КарНЦ РАН за внимание, поддержку и практическую помощь, а также всех друзей и коллег по работе, с надеждой на продолжение совместных исследований.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Глава 1. Физико-географические особенности районов исследования, характеристика качества вод и антропогенная нагрузка на водные экосистемы

Приводятся особенности гидрохимического режима, трофического статуса, техногенной нагрузки на исследованные водные объекты. Показано многоцелевое использование и определены приоритетные загрязняющие вещества в комплексе антропогенных факторов для каждого водного объекта: оз. Имандра – тяжелые металлы и сульфаты; бассейн р. Печоры – нефть и ее производные, хлорорганические соединения, алюминий, тяжелые металлы; Выгозерское водохранилище – стоки Сегежского ЦБК, содержащие взвешенные вещества, лигнин, сульфаты, хлориды, фосфаты, нитраты, нитриты, фенолы, анионные поверхностно-активные вещества, органических сернистые соединения, сероводород, метанол. В последние годы возросло значение Выгозерского водохранилища, как транспортной артерии, что привело к увеличению судоходства и, как следствие, попаданию нефтепродуктов в водоем; р. Лососинка – нефтепродукты и тяжелые металлы, превышающие установленные рыбохозяйственные ПДК; р. Орзег – фосфаты, нитраты, тяжелые металлы; оз. Холмовское – эвтрофирование, цианотоксины, ХОП и ПХБ, превышение ПДК по железу, марганцу, гексахлорбензолу; р. Кета-Ирбэ – тяжелые металлы, сульфаты, фенолы; р. Волга – производные нефтепродуктов, СПАВ, пестициды, тяжелые металлы. В качестве фоновых водных объектов выбраны р. Кара, не подверженная антропогенному воздействию, и Онежское озеро – водоем, который испытывает локальную техногенную нагрузку, но в целом оцениваемый как чистый и сохраняющий природное качество вод. Более подробно дано описание содержания загрязняющих веществ в бассейне р. Печоры и оз. Холмовском, для которых были проведены исследования по содержанию ПАУ, ПХБ, нефтепродуктов, тяжелых металлов, цианотоксинов.

### Глава 2. Объекты и методы исследования

Решение поставленных задач основано на многолетних исследованиях (2000-2010 гг.), география которых охватывает европейско-сибирскую область Палеарктики (озера Имандра, Холмовское, Онежское озеро и его притоки, реки Кара, Северная Двина, Печора, Волга, Кета-Ирбэ – Норило-Пясинская озерно-речная система) (рис. 1). В качестве тест-объектов выбраны виды рыб, не принадлежащие к одной систематической группе, но преобладающие в исследованных водных объектах: сиг (*Coregonus lavaretus* L.), язь (*Leuciscus idus* L.), пресноводная речная форма кумжи – форель (*Salmo trutta*), усатый голец (*Barbatula barbatula* L.) и подкаменщик обыкновенный (*Cottus gobio* L.).

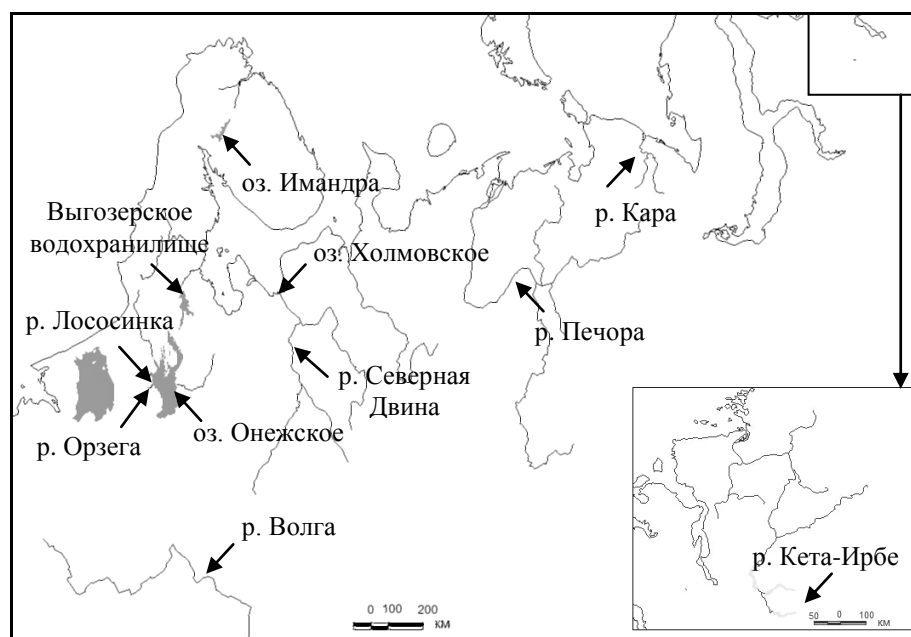


Рис. 1. Карта расположения исследованных водных объектов

Обловы рыбы проводили набором ставных жаберных сетей из нейлонового монофиламента, стандартной длины – 25 м, высотой – 1,5 м и размером ячеи: 10, 12,5, 16, 22, 25, 30, 35, 38 и 45 мм, что обеспечивает вылов рыбы длиной от 5 см и более. В реках Орзег, Лососинка и Кара использовали электролов. Для оценки техногенной нагрузки в бассейне р. Печоры определяли валовое содержание нефтепродуктов, приоритетных ПАУ и ПХБ в воде и донных отложениях. В оз. Холмовском - содержание ПХБ в донных отложениях и токсинов цианобактерий в воде.

Анализ содержания СОЗ и ПАУ в тканях рыб. Определение качественного состава и содержания ХОП, ПХБ и ПАУ в рыбе проводилось методом хромато-масс-спектрометрии (Шелепчиков и др., 2008).

Биохимические методы исследования. Содержание продуктов перекисного окисления липидов определяли в цельном гомогенате по цветной реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (Владимиров, Арчаков, 1972). Активность супероксиддисмутазы определяли в супернатанте с нитросиним тетразолием и феназинметасульфатом в присутствии восстановленной формы никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) по методу (Чевари и др., 1985). Определение биохимических показателей проводилось на спектрофотометре СФ 26 (ЛОМО, Санкт-Петербург).

Липиды экстрагировали по методу Фолча (Folch et al., 1957) смесью растворителей хлороформ:метанол (2:1 по объему). Состав жирных кислот анализировали методом газожидкостной хроматографии (Цыганов, 1971). Идентификацию жирных кислот проводили путем расчета эквивалента длины цепи (ЭДЦ) и сравнением его с табличными данными (Jamieson, 1975). Относительное содержание жирных кислот оценивали по методу Бартлета и Иверсона (Bartlet, Iverson, 1966).



Гистологические методы исследования. Для оценки морфофункционального состояния жабр, печени и почек использовали классические гистологические методы: гистологические препараты готовились методом заливки органов и тканей в парафин, с последующим изготовлением парафиновых блоков и гистологических срезов с использованием санного микротомы (Роскин, Левинсон, 1957; Волкова, Елецкий, 1982). Диагностика осуществлялась в соответствии с критериями, предложенными рядом авторов (Матей, 1996; Fish pathology, 1978; Hinton, Lauren, 1990; Couch, 1993; Cormier et al., 1995; Boorman et al., 1997; Bernet et al., 1999; Lang et al., 2006; Wolf, Wolfe, 2005; Bruno et al., 2006; Nero et al., 2006).

Статистические методы исследования. Статистическую обработку полученных результатов проводили общепринятыми методами, оценивая достоверность различий по t критерию Стьюдента, непараметрическому U-критерию Вилкоксона-Манна-Уитни (Коросов, Горбач, 2007; Ивантер, Коросов, 2010). С целью выявления зависимости между исследуемыми параметрами рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена. Различия и корреляционную связь считали достоверной при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ . Использован пакет прикладных программ MS Excel и Statgraphics.

### **Глава 3. Ихтиофауна и роль отдельных видов в ее формировании**

В главе рассматривается становление ихтиофауны европейской-сибирской области Палеарктики, которая дошла до наших дней практически в неизменном виде как единый фаунистический комплекс, возникший в верхне-третичное время (Берг, 1948, Лебедев, 1960). Ревизия видов, проведенная в исследованных водоемах на основе литературных и собственных данных, показала, что в ихтиофауне России за последние 50 лет произошли существенные изменения (Атлас..., 2002 а, б; Решетников, 2007). Появление новых видов, по мнению ряда авторов (Мина и др., 2006; Решетников, Лукин 2006; Решетников, 2007), связано с расширением ареалов, самоакклиматизацией и интродукцией в результате проведения рыбохозяйственных работ. Часть видов существенно сократила свой ареал в связи с изменением среды обитания, некоторые, ранее многочисленные виды оказались вне пределов России. Таким образом, процесс формирования российской ихтиофауны активно продолжается за счет видов интродуцентов и самовселенцев.

Установлено, что в водоемах европейско-сибирской области Палеарктики по количеству видов, входящих в семейства, доминируют карповые. Они определяют видовое разнообразие рыбной части сообщества в бассейне р. Печоры (25%), Выгозерском водохранилище (28%), р. Лососинке (31%), оз. Холмовском (33%), р. Волге (42%). Видовое разнообразие рыбного сообщества р. Кары определяется сиговыми (29%). Интерес вызывает особое положение подкаменщика обыкновенного, являющегося «краснокнижным» видом. Однако этот вид, за исключением оз. Холмовского, встречался во всех исследованных водных объектах, достигая наиболее высокой численности в р. Каре, что вызывает сомнение в редкости данного вида и его

статусе «краснокнижного». Вопрос о целесообразности занесения этого вида в число редких и нуждающихся в охране поднимается в ряде исследований (Королев, Решетников, 2004).

#### **Глава 4. Хлорорганические пестициды, полихлорированные бифенилы и полициклические ароматические углеводороды в тканях рыб как биомаркеры воздействия**

Концепция биологических маркеров. Исследования базировались на концепции биологических маркеров (Hinton, Laurén 1990; Huggett et al., 1992), согласно которой они объединены в три группы: воздействия, эффекта и чувствительности. Данная глава посвящена оценке накопления ХОП, ПХБ и ПАУ в организме рыб бассейна р. Печоры, для которой нефтяное загрязнение по значимости, продолжительности и многопрофильности влияния является приоритетным. Данные вещества, накапливаясь в тканях и вызывая морфофункциональные нарушения в организме рыб, выступают в качестве биомаркеров воздействия, по которым можно прогнозировать последствия негативного влияния на организменном и популяционном уровнях (Chambers et al., 2002).

Накопление ХОП, ПХБ и ПАУ в тканях рыб. СОЗ и ПАУ являются объектами постоянного мониторинга как наиболее устойчивые к трансформации и характеризующиеся высокой потенциальной опасностью для человека и животных (Кленкин и др., 2008; Шайдуллина, 2011; Ильин, 2012; Norena-Barroso et al., 2004; Buet et al., 2006; German et al., 2010; Miranda et al., 2008; Khan, 2010). ХОП и ПХБ, относящиеся к группе стойких органических загрязняющих веществ, отличаются чрезвычайной биологической активностью и способностью накапливаться в разных звеньях пищевой цепи. ПАУ вызывают к себе пристальный интерес в связи с их высокой канцерогенной и мутагенной активностью, что определило выбор данных поллютантов.

17 различных хлорорганических пестицидов было проанализировано в тканях печорских рыб. Ретроспективный анализ содержания ХОП в печени и мышцах выявил снижение всех компонентов в 2008 г. по сравнению с 1997 г. (рис. 2).

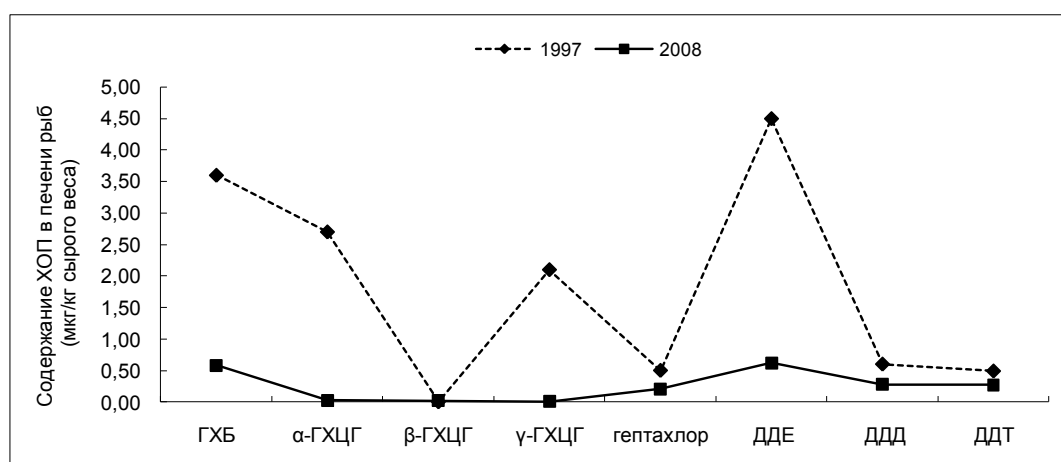


Рис. 2. Межгодовая изменчивость содержания ХОП в печени рыб

Наиболее широким распространением и экологической опасностью в этой группе соединений выделяются ДДТ и его метаболиты (ДДД, ДДЕ), а также смесь изомеров гексахлорциклогексана (ГХЦГ). ДДТ, попавший в окружающую среду и циркулирующий в ней продолжительное время, трансформируется в более стойкие ДДД и ДДЕ, которые начинают преобладать среди смеси метаболитов. Соотношение концентраций ДДТ и продукта его деградации ДДЕ в тканях рыб позволяет судить о времени существования ДДТ в водном объекте (Лукиянова и др., 2012; Strandberg, Hites, 2001). Компонентный анализ ДДТ выявил практически весь спектр его метаболитов, которые являлись доминирующими соединениями в тканях рыб во все периоды исследования, что свидетельствует о постоянных поступлениях в водную экосистему мало трансформированного препарата (табл. 1).

Таблица 1. Содержание ХОП в тканях рыб (мкг/кг сырого веса)

Показатель	1997				2008			
	Верховье р. Печоры				Верховье р. Печоры		Низовье р. Печоры	
	Язь		Сиг		Сиг		Сиг	
	Печень	Мышцы	Печень	Мышцы	Печень	Мышцы	Печень	Мышцы
ГХБ	2,40	1,45	3,60	0,52	0,58	0,04	1,01	0,11
$\alpha$ -ГХЦГ	1,35	*	2,70	0,64	0,03	*	0,07	*
$\beta$ -ГХЦГ	*	*	*	*	0,02	0,02	0,13	0,02
$\gamma$ -ГХЦГ	1,12	0,73	2,10	0,37	0,01	*	0,16	0,01
Гептахлор	9,70	0,71	0,50	0,74	0,21	*	*	*
2,4-ДДЕ	0,23	1,71	1,70	0,26	0,06	*	0,09	*
4,4'-ДДЕ	9,10	0,76	2,80	0,69	0,56	0,09	1,26	0,245
2,4-ДДД	*	*	*	*	0,03	*	0,18	*
4,4'-ДДД	0,87	*	0,60	*	0,25	0,02	0,52	0,045
2,4-ДДТ	0,64	*	*	*	0,08	*	0,15	*
4,4'-ДДТ	1,57	*	0,49	0,31	0,19	*	0,28	0,03

Вместе с тем, преобладающим соединением в смеси метаболитов был ДДЕ, при этом соотношение ДДТ/ДДЕ существенно  $<1$  (табл. 2).

Таблица 2. Соотношение метаболитов ДДТ/ДДЕ и  $\alpha$ -ГХЦГ/ $\gamma$ -ГХЦГ в тканях рыб

Орган	1997		2008	
	Верховье р. Печоры		Верховье р. Печоры	Низовье р. Печоры
	Язь	Сиг	Сиг	Сиг
ДДТ/ДДЕ				
Печень	0,24	0,11	0,44	0,32
Мышцы	0,00	0,33	0,00	0,12
$\alpha$ -ГХЦГ/ $\gamma$ -ГХЦГ				
Печень	1,21	1,29	5,00	0,47
Мышцы	0,00	1,73	0,00	0,00

Качественный анализ гексахлорциклогексана выявил неоднородность состава в разные периоды исследования. В 1997 г. в тканях рыб он был представлен  $\alpha$ - и  $\beta$ -изомерами, в то время

как в 2008 г. были обнаружены  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -ГХЦГ. Следует отметить, что  $\gamma$ -изомер наиболее токсичный,  $\beta$ -изомер обладает также канцерогенной активностью (Лукиянова и др., 2012). В случае длительной циркуляции ГХЦГ в окружающей среде в его составе начинает преобладать доля  $\alpha$ -изомера, что указывает на время нахождения данного пестицида в водоеме. Суммарное содержание ГХЦГ было незначительно во все периоды исследований, преобладающим соединением в верховье реки являлся  $\alpha$ -ГХЦГ, а соотношение концентраций  $\alpha$ -ГХЦГ/ $\gamma$ -ГХЦГ составляло  $>1$ . В низовье р. Печоры в 2008 г. доминировал  $\gamma$ -ГХЦГ, а соотношение  $\alpha$ -ГХЦГ/ $\gamma$ -ГХЦГ было  $<1$  (табл. 2). Таким образом, выявленные соотношения метаболитов ДДТ и изомеров ГХЦГ свидетельствуют о длительной циркуляции данных веществ в водной экосистеме и о хроническом загрязнении водотока, а также о том, что низовье р. Печоры подвергается в настоящее время загрязнению пестицидами группы гексахлорциклогексана. Концентрации исследованных пестицидов были на низком уровне и соответствовали таковым в рыбах Баренцева и Азовского морей, у тропических рыб (Ильин, Скурихин, 2005; Плотицына, 2010; Ильин, 2011, 2012; Miranda et al., 2008), но именно хроническое воздействие этих соединений в малых дозах способствует развитию воспалительных реакций и дегенеративных необратимых процессов в организме рыб (Vaschenko et al., 2003; Miranda et al., 2008).

Содержание ПХБ в тканях рыб не зависимо от видовой принадлежности было на низком уровне, однако накопление в разные периоды отличалось крайней неоднородностью и увеличением количества конгенов ПХБ в 2008 г (8) по сравнению с 1997 г. (4) (табл. 3, рис. 3).

Таблица 3. Содержание конгенов ПХБ в тканях рыб (мкг/кг сырого веса)

Показатель	1997				2008			
	Верховье р. Печоры				Верховье р. Печоры		Низовье р. Печоры	
	Язь		Сиг		Сиг		Сиг	
	Печень	Мышцы	Печень	Мышцы	Печень	Мышцы	Печень	Мышцы
ПХБ#28	*	*	*	*	0,25	0,16	1,92	0,26
ПХБ#52	*	*	*	*	0,22	0,17	0,28	0,17
ПХБ#101	0,10	0,10	0,97	0,57	0,46	*	0,71	0,10
ПХБ#105	*	*	*	*	0,33	*	0,24	*
ПХБ#118	0,30	0,39	2,70	0,93	1,73	*	0,53	*
ПХБ#138	3,70	0,31	2,00	2,11	0,68	*	0,89	*
ПХБ#153	1,17	0,59	2,80	0,75	0,59	*	0,77	0,11
ПХБ#180	*	*	*	*	0,33	0,03	0,35	*

Наибольшим содержанием отличались конгены ПХБ-118, 153 и 138, которые относятся к высокохлорированным, следовательно, метаболизируются и выводятся из организма медленнее, чем низкохлорированные. Их присутствие в организме рыб способствует развитию окислительного стресса и, как следствие, широкого спектра патологий (Li et al., 2000; Avci et al., 2005; Barnthouse et al., 2009). Пороговые концентрации ПХБ в тканях рыб, вызывающие гистопатологические изменения, определены в пределах 1,0-8,8 мкг/кг (Кленкин и др., 2008). Особо следует отметить конгенер ПХБ-118 - диоксиноподобное соединение, относится к группе

наиболее токсичных и провоцирует появление злокачественных опухолей, нарушение репродуктивной функции (Епифанцев и др., 2002).

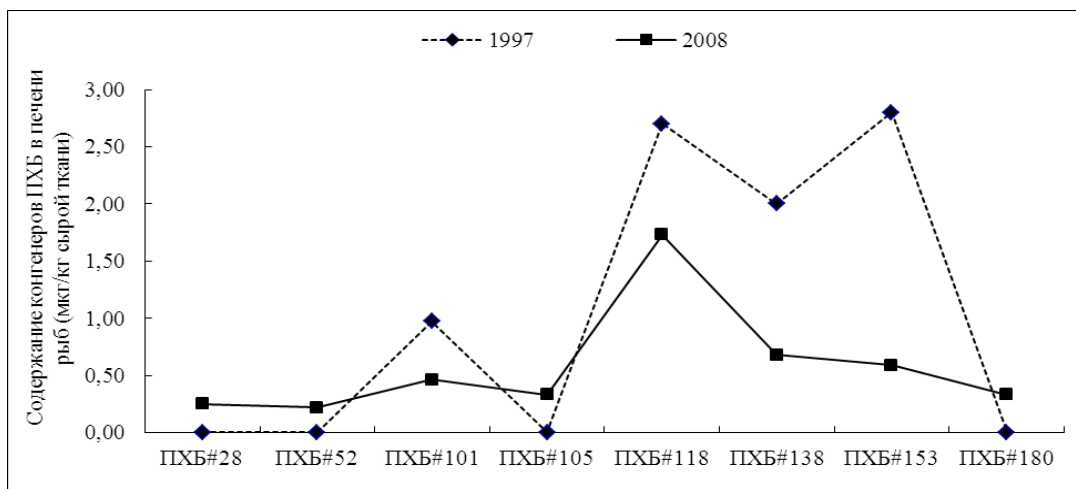


Рис. 3. Межгодовая изменчивость содержания ПХБ в печени рыб

В целом, сравнительный анализ спектра исследуемых конгенов ПХБ демонстрирует стабильное понижение концентраций в тканях рыб в 2008 г. относительно 1997 г., которые сопоставимы с таковыми у рыб азово-черноморского бассейна, Баренцева моря и р. Волги (Плотицына, 2010; Ильин, 2012; German et al., 2010). Однако, разнородность композиционного состава, одновременное присутствие низкохлорированных и высокохлорированных ПХБ свидетельствуют о длительной их циркуляции в пределах данной речной системы, а также об относительно недавних поступлениях загрязняющих веществ в водную экосистему.

Композиционный анализ ПАУ выявил 12 аренов в тканях рыб, которые отличались крайне низким содержанием (табл. 4).

Таблица 4. Компонентный состав ПАУ в тканях рыб (мкг/кг сырого веса)

Показатель	1997				2008			
	Верховье р. Печоры				Верховье р. Печоры		Низовье р. Печоры	
	Язь		Сиг		Сиг		Сиг	
	Печень	Мышцы	Печень	Мышцы	Печень	Мышцы	Печень	Мышцы
Нафталин	*	*	21,00	*	*	*	37,33	*
Аценафтилен	*	*	*	*	*	*	117,60	8,68
2-Метилнафталин	*	*	3,50	*	1,46	*	116,53	9,54
1-Метилнафталин	*	*	1,80	*	*	*	2,71	*
Флюорен	*	6,10	*	*	*	*	*	*
Аценафтен	*	*	*	*	0,32	*	12,41	1,05
Фенантрен	25,00	*	15,00	4,20	1,22	*	22,00	1,43
Антрацен	1,60	0,40	1,80	0,60	*	*	0,76	*
Флюорантен	1,80	*	1,40	2,10	*	*	2,85	*
Пирен	*	4,50	*	*	*	*	2,90	*
Бензо(а)антрацен	0,80	0,80	*	1,20	*	*	0,87	*
Хризен	*	*	*	2,60	*	*	*	*

Состав аренов имел межгодовые различия: в 1997 г. (выявлено 7 аренов) преобладали нафталин (47%) и фенантрен (34%), в 2008 г. (выявлено 3 арена) - доля метилнафталина и фенантрена увеличивалась до статуса доминирующих ПАУ (48% и 41% соответственно). Накопление нафталина и метилнафталинов является следствием нефтяного загрязнения, кроме того метилнафталин известен как один из наиболее токсичных компонентов растворимой фракции нефти (Cerniglia et al., 1984). Уровень аккумуляции обнаруженных ПАУ в тканях печорских рыб сопоставим с величиной их накопления у рыб азово-черноморского бассейна, находящегося под влиянием стойких органических загрязнителей, но превышает концентрации ПАУ в тканях рыб малозагрязненного Баренцева моря (Ильин, 2011, 2012).

Таким образом, концентрации ХОП, ПХБ и ПАУ в тканях печорских рыб ниже существующих санитарно-гигиенических норм ПДК для пищевых продуктов (Гигиенические требования..., 2001). Однако установленная норма регулирует предельно допустимое содержание данных веществ в рыбах лишь с позиции их потребления человеком и не отражает их экологической опасности для ихтиофауны. Не исключено, что на современном этапе в организме печорских рыб обменные процессы протекают с привнесенными извне углеводородами антропогенного происхождения. Ряд данных соединений не свойственен живой природе и последствия их включения в жизнедеятельность организма непредсказуемы. Согласно большинству исследований, токсичность стойких органических загрязняющих веществ и ПАУ, характеризующихся высокой степенью биоаккумуляции и низким метаболизмом, относится к разряду отдаленных биологических последствий, проявляющихся через десятилетия (Бутаев и др., 2002; Brand et al., 2001; Khan 2003, 2010). Кроме того, нами установлено одновременное присутствие в тканях рыб ХОП, ПХБ и ПАУ, что усиливает токсический эффект каждого (Khan, 2010), а качественный состав СОЗ указывает на возможное продолжающееся в настоящее время поступление данных соединений в исследуемую водную экосистему.

## **Глава 5. Морфофункциональные изменения в организме рыб как биомаркеры эффекта**

В условиях антропогенного воздействия в организме рыб развиваются реакции, которые определяют перестройки на всех уровнях организации – от биохимического статуса в клетках до изменений всей популяции и являются хорошим индикатором качества среды, особенно, в условиях сублетальных и хронических воздействий. Литература по хроническому загрязнению водных экосистем довольно обширна и свидетельствует о том, что долговременное воздействие низких концентраций токсических веществ не вызывает непосредственно гибели организмов (Khan, Billiard, 2007; Pathan et al, 2010; Diniz et al, 2011), но пагубно влияет на гидробионтов, в частности на рыб (Stehr et al., 2003; Avci et al., 2005). Установление причинно-следственных связей в условиях мультифакторного антропогенного воздействия – не простая задача. В этой связи возрастает ценность исследования комплекса биологических ответов на разных уровнях биологической организации. Данная глава посвящена результатам исследования изменений на

макромолекулярном уровне (показатели окислительного стресса и адаптивные перестройки в спектре жирных кислот) и тканевом уровне (морфофункциональные изменения в организме рыб), которые мы объединили в группу биомаркеров эффекта.

Показатели окислительного стресса в организме рыб в условиях нефтяного загрязнения.

Универсальным механизмом повреждения мембранных структур клетки при действии неблагоприятных факторов среды является процесс перекисного окисления липидов, для нейтрализации которого в организме существует антиоксидантная система (Барабой и др., 1991; Halliwell, Gutteridge, 1989; Porter et al., 1995; Livingstone, 2003; Ferreira et al., 2005). Соотношение этих разнонаправленных процессов может служить интегральным показателем состояния организма (Winston, Giulio, 1991).

Исследование параметров окислительного стресса в зависимости от уровня загрязнения акватории демонстрирует достоверное увеличение продуктов ПОЛ в очагах загрязнения на фоне неизменной активности СОД (рис. 4).

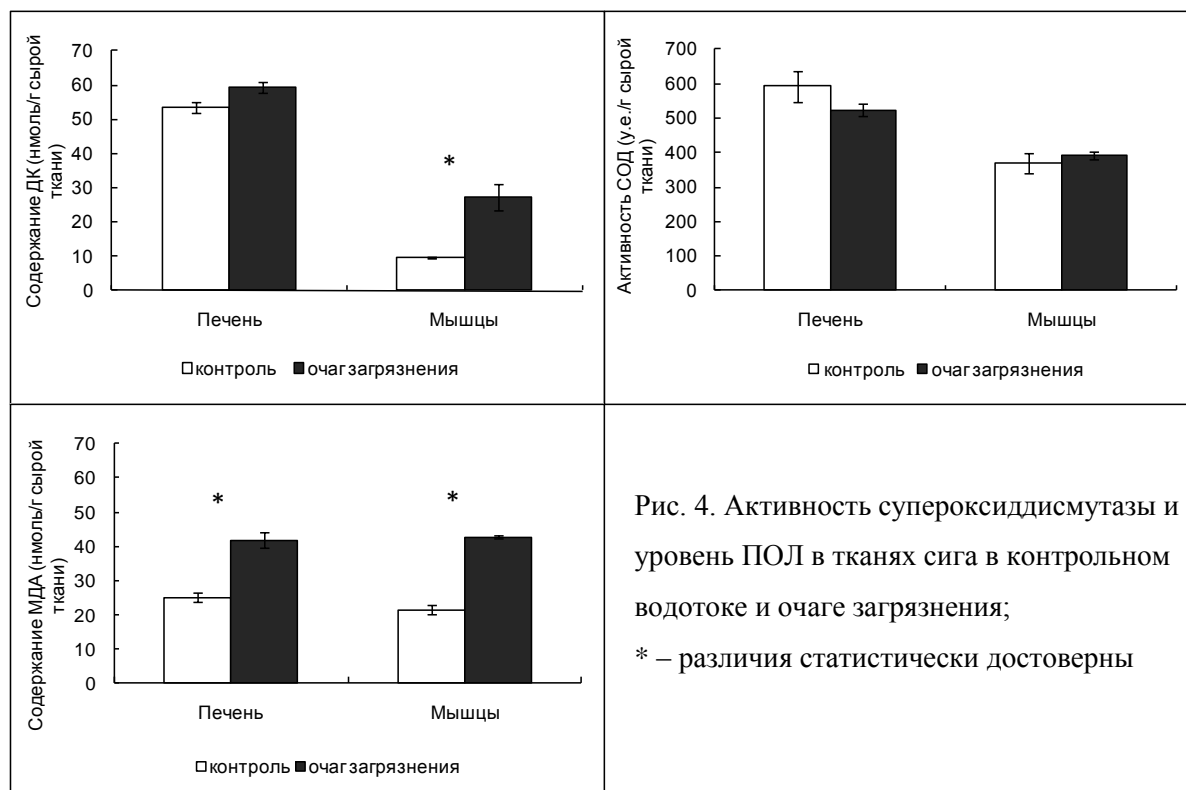


Рис. 4. Активность супероксиддисмутазы и уровень ПОЛ в тканях сига в контрольном водотоке и очаге загрязнения;

\* – различия статистически достоверны

Это указывает на высокую интенсивность образования АФК в тканях рыб и, как следствие, усиление процессов ПОЛ, а также свидетельствует об истощении ресурсов антиоксидантной системы под влиянием неблагоприятных факторов, хроническое действие которых подтверждают результаты наших исследований по накоплению ХОП, ПХБ и ПАУ в тканях рыб. Известно, что при низких уровнях загрязнения и небольшой продолжительности действия токсичных веществ АОЗ способна нейтрализовать активность свободных радикалов, появляющихся при действии ксенобиотиков. Невысокий уровень токсиканта, но при большей продолжительности действия

вызывает уменьшение общей антиоксидантной активности (Гераскин, 2013). Аналогичные отклики исследованы в организме рыб под влиянием ПХБ (Морозов и др., 2009), минерального азота (Потрохов и др., 2009), тяжелых металлов (Богдан, 2004; Залевская, 2004; Berntssen et al., 2000), и нефти (Isuev et al., 2000) и связаны с аккумуляцией токсикантов в липидах и с включением ксенобиотиков в жировой обмен (Моисеенко, 2009; Marther-Minaich, Giulio, 1991; McFarland et al., 1999; Porte et al., 2002; Achuba, Osakwe, 2003).

Анализ содержания в печени и мышцах показателей окислительного стресса свидетельствует о выраженной тканевой специфичности. Содержание продуктов ПОЛ в печени рыб было достоверно выше, чем в мышцах. Аналогичная закономерность выявлена в отношении активности супероксиддисмутазы. Подобная тканевая специфичность объясняется ключевой ролью печени в процессах детоксикации и подтверждается рядом исследований (Морозов и др., 2009; Потрохов и др., 2009; Achuba, Osakwe, 2003; Fernandes et al., 2008).

Адаптивные изменения в спектре жирных кислот в тканях сига в условиях нефтяного загрязнения. Возрастающий спектр загрязняющих веществ и множественный механизм токсичности остро ставят проблему адаптивных возможностей живых организмов. Биохимические перестройки в жирнокислотном составе представляют универсальный механизм адаптации, обеспечивающий выживание пойкилотермных животных, в том числе и рыб (Крепс, 1981).

Исследование спектра жирных кислот печени сига выявило до 30 компонент. Состав кислот имел характерное для пресноводных рыб высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот (55% от общей суммы), причем, в основном, за счет кислот  $\omega$ 3-ряда, что предопределено низкими температурами и обеспечивает необходимый уровень вязкости биомембран (Хочачка, Сомеро, 1977). Преобладающими были кислоты: пальмитиновая (16:0), пальмитоолеиновая (16:1), олеиновая (18:1), арахидоновая (20:4 $\omega$ 6), эйкозапентаеновая (20:5 $\omega$ 3) и докозагексаеновая (22:6 $\omega$ 3). В контрольном водотоке суммарное содержание кислот  $\omega$ 3-ряда составляло около 40 %, а кислот  $\omega$ 6-ряда - 11 % от всех кислот. Коэффициент  $\omega$ 3/ $\omega$ 6 был равен 3.8, что типично для пресноводных рыб (Cowe, 1988).

Токсикологическое воздействие нефтяного загрязнения привело к тому, что в очагах загрязнения сумма насыщенных кислот оставалась неизменной, сумма полиеновых - уменьшалась, а сумма моноеновых – увеличивалась. В результате всех количественных перераспределений в печени сига из очагов загрязнения суммарный уровень  $\omega$ 3-кислот достоверно снизился (рис. 5), а  $\omega$ 6-кислот остался неизменным, коэффициент  $\omega$ 3/ $\omega$ 6 сократился незначительно и оставался в пределах нормы, которые указаны для пресноводных рыб от 1 до 4 (Cowe, 1988).

Снижение полиненасыщенных жирных кислот в печени сига сопровождалось активацией ПОЛ, для которого ПНЖК являются основными субстратами, что является одной из причин количественных изменений в спектре полиенов. Взаимосвязь параметров ПОЛ и содержания жирных кислот демонстрирует корреляционный анализ, свидетельствующий о достоверном снижении ПНЖК при увеличении МДА и ДК.



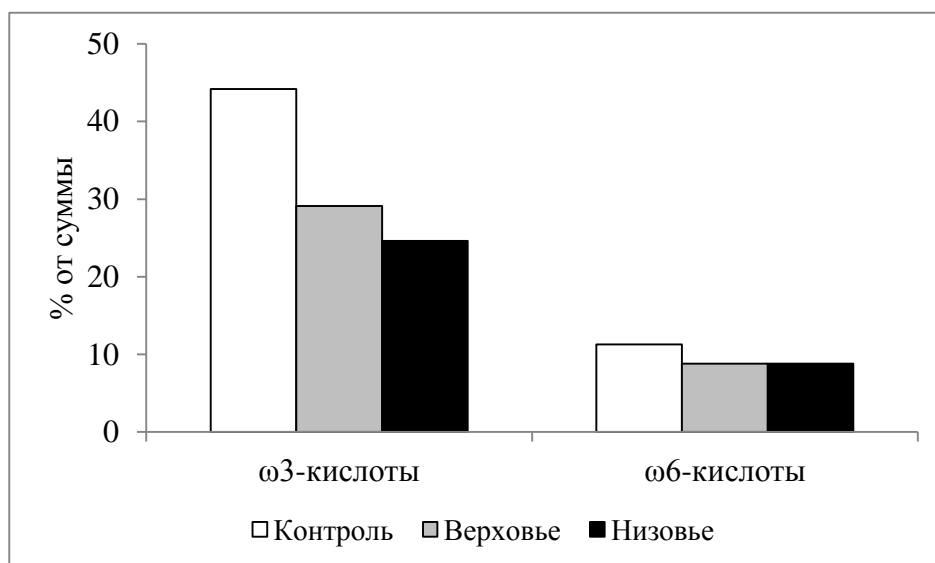


Рис. 5. Сумма кислот  $\omega 3$ -ряда и  $\omega 6$ -ряда в печени сига из контрольного водотока и очагов загрязнения (верховье и низовье р. Печоры)

Наибольший вклад в дефицит полиенов внесли арахидоновая (20:4 $\omega 6$ ) и докозагексаеновая (22:6 $\omega 3$ ) кислоты, количество которых сократилось в очагах загрязнения в 2 раза. Дефицит  $\omega 3$ -кислот, которые в силу уникальности своих свойств играют важную роль в компенсировании негативных изменений (Bell et al., 1986; Alexander et al., 1991; McKinley et al., 1993), может быть причиной ряда патологий, диагностированных в данном исследовании. В частности нефропатий, которые сопровождались пролиферацией мезангиальных клеток в гломеруле, утолщением стенки и расширением кровеносных сосудов, утолщением базальной мембраны, дегенерацией почечных канальцев и развиваются вследствие недостатка  $\omega 3$ -кислот (Barcelli et al., 1990; Wheeler et al., 1991; D'Amico, Gentile, 1993; Malyszko et al., 1996). Подобная тенденция к снижению уровня ПНЖК в тканях печени и гонад сига была отмечена для оз. Имандра, испытывающего мультифакторное загрязнение (Богдан и др., 1992; Шарова, 1999; Тойвонен и др., 2001 а, б; Нефедова и др., 2007). Не меньший интерес представляет арахидоновая кислота, которая играет значительную роль в процессах реабилитации поврежденных тканей (Donadio, et al., 1994; Hogg, Waldo, 1996; Donadio et al., 1999). Снижение содержания арахидоната может быть связано с ее расходом в процессе образования простагландинов, которые воздействуя на клетки печени, способствуют их пролиферации и, соответственно, регенерации печени (Гарбузенко, Попов, 2001)

Таким образом, выявленные перестройки в составе жирных кислот в очагах загрязнения направлены на снижение общей ненасыщенности и свидетельствуют о наличии токсичного воздействия на организм рыб. Коэффициент  $\omega 3/\omega 6$  сохраняется в пределах нормы, что носит адаптивный характер и обеспечивает сохранение биологических свойств мембран в изменяющихся условиях среды.

Морфофункциональные изменения в организме рыб. Результаты гистологических исследований свидетельствуют о широком спектре морфофункциональных изменений в организме рыб в водоемах и водотоках Палеарктики. В Онежском озере и р. Кара, не испытывающих техногенного воздействия, морфологические изменения характеризовались небольшим разнообразием. В жабрах единственным признаком изменений прогрессивного типа являлась гиперплазия клеток респираторного эпителия. Архитектура печени не была нарушена и ее трабекулярная структура сохранялась неизменной. Выявлены случаи кариопикноза и соединительнотканые разрастания вокруг кровеносных сосудов. В почках отмечались незначительные разрастания соединительной ткани вокруг почечных канальцев, блокада канальцев клеточным детритом, очаги агрегации макрофагов. Все выявленные структурные изменения носили единичный характер.

*Влияние сточных вод целлюлозно-бумажной промышленности* исследовалось на примере Выгозерского водохранилища и р. Северная Двина. Негативное воздействие сточных вод ЦБП определяется наличием танинов, лигнинов, смол, терпенов, фенолов, диоксинов и фуранов, которые характеризуются высокой токсичностью и низким метаболизмом (Buzzini et al., 2007). Рыбы, подвергшиеся сублетальному воздействию сточных вод ЦБП, характеризуются замедленным темпом роста и поздним созревaniem, изменениями биохимических, физиологических, иммунологических и репродуктивных показателей, развитием гистопатологий и неоплазий (Diniz et al., 2011; Khan, Billiard, 2007; Pathan et al., 2010).

В жабрах рыб на первый план выступали гиперплазия эпителиальных, слизистых, хлоридных и эозинофильных клеток. Поскольку слизистые и хлоридные клетки характеризуются наибольшей чувствительностью к кислотному и осмотическому фактору среды, гиперплазия данного типа клеток представляет собой адаптивную неспецифическую реакцию на загрязнение, в частности сточными водами ЦБП (Pathan et al., 2010; Rascovic et al., 2010). Вместе с тем, опасность гиперсекреции слизи заключается в том, что ее избыточный слой уменьшает общую диффузионную поверхность жабр, подавляет респираторную функцию и служит субстратом для быстрого роста бактерий (Матей, 1996; Fish Pathology, 1989). Среди дегенеративных нарушений наиболее тяжелыми патологиями были гемолиз эритроцитов, отек и некроз респираторного эпителия, который часто сопровождался полной деструкцией респираторных ламелл, что свидетельствовало о прогрессирующем течении патологического процесса. Отеки представляют собой универсальную ответную реакцию и диагностированы у рыб в условиях высоких концентраций аммония и показателя pH (Raskovic et al., 2010), при длительном воздействии высоко токсичного кадмия (Susithra et al., 2008) и ПХБ (Peeuba et al., 2008). Их адаптивная роль заключается в предотвращении распространения токсичных веществ по организму (Литвицкий, 2003), однако тяжелые формы способствуют нарушению обмена веществ между кровью и клетками, подавлению дыхательной функции (Smith, Piper, 1975). Нарушение кровообращения проявлялось наличием венозного стаза, гиперемии, кровоизлияний и аневризм, которые являются результатом непосредственного воздействия токсического агента на ткань (Rosety-Rodríguez et al.,

2002; Martinez et al., 2004) и развиваются у рыб при воздействии сточных вод ЦБП в течение первых 96 часов (Wade et al., 2002). Разрастание соединительной ткани приводило к слиянию филаментов и превращению строго организованного жаберного аппарата в бесструктурную массу. В дополнение к вышеперечисленным патологиям в жабрах диагностированы инфузории, не вызывавшие развитие морфологических нарушений и микроспоридии, стимулировавшие чрезмерную гипертрофию эпителиальных клеток, гиперсекрецию слизи, появление воспалительных инфильтратов и развитие фиброза.

В спектре морфологических изменений печени наиболее тяжелыми и необратимыми являлись злокачественные неопластические изменения – карцинома печени. Группа прогрессивных изменений объединяла: гиперплазию стенок кровеносных сосудов и гепатоклеточную регенерацию, которая сопровождала дегенеративные процессы – некроз, кариопикноз, липоидную дегенерацию. Диагностированные фиброз желчных протоков и кистозное перерождение способствовали снижению метаболической активности печени, в частности ее антитоксических функций. Воспалительные реакции включали очаговую инфильтрацию лимфоцитами и пролиферацию макрофагов, которые относятся к разряду хронического неспецифического воспаления, сопровождают дегенеративные процессы и нацелены на утилизацию эндогенных и экзогенных веществ (Wolke, 1992; Pacheco, Santos, 2002; Facey et al., 2005). Среди нарушений кровообращения выявлены стаз кровеносных сосудов, тромбообразование и кровоизлияния, которые по данным ряда авторов появляются у рыб, подверженных летальным концентрациям стоков ЦБП, в течение первых 96 часов (Pathan et al., 2010).

В почках дегенеративные изменения включали гемолиз эритроцитов, липоидную дегенерацию, некротические процессы и соединительнотканное разрастание; воспалительные реакции характеризовались наличием мелано-макрофагальных центров и гранулем. Пролиферация макрофагов была вызвана необходимостью утилизации продуктов распада клеточных мембран и разрушенных эритроцитов, появившихся в результате воздействия загрязняющих веществ. Гранулемы являлись следствием пролиферации макрофагов, а отсутствие в них признаков некроза исключало инфекционную этиологию и свидетельствовало о воздействии токсичных веществ. У некоторых рыб отмечалось появление структур, характерных для различных этапов процесса образования новых нефронов. Признаки гломерулопатии (пролиферация мезангиальных клеток, утолщение стенок и расширение кровеносных сосудов) и тубулопатии (кариопикноз, некроз канальцевого эпителия, отложение клеточного детрита в просвете канальцев, вакуолизация эпителия канальцев, чрезмерное разрастание соединительной ткани вокруг канальцев) наблюдались практически у всех исследованных особей. Все эти структурные изменения являются признаками острого некроза канальцев и выявляются у рыб уже через 24 часа после воздействия сточных вод ЦБП (Pathan et al., 2010).

*Загрязнение вод тяжелыми металлами* изучалось на примере р. Кета-Ирбэ и оз. Имандра. В жабрах гиперплазия эпителия филаментов способствовала исчезновению свободной

поверхности респираторных ламелл, контактирующих с внешней средой. При этом количество клеточных слоев, формирующих эпителий филамента, достигало 19-22 вместо 4-6, характерных для активных сиговых рыб, что в данном случае позволяет рассматривать увеличение высоты эпителия филамента как фактор, лимитирующий уровень газообмена (Lauren, McDonald, 1985; Mueller et al., 1991; Van Heerden et al., 2004). Дегенеративные изменения преобладали и были представлены гемолизом эритроцитов, отеками и некрозом респираторного эпителия, лизисом респираторных ламелл. Случаи появления аневризм были единичны. У рыб, обитающих в р. Кета-Ирбэ, наиболее тяжелой патологией была неопластическая трансформация: беспорядочные массивные очаговые скопления мелких мономорфных темных клеток и новообразование из эпителиальных клеток, которые характеризовались быстрым ростом, распространялись по межтканевым пространствам, по ходу кровеносных сосудов и прорастали в окружающие ее ткани, нарушая их целостность.

В печени диагностированы дегенеративные изменения (кариопикноз, гемолиз эритроцитов, некроз паренхимы, жировая дистрофия), соединительнотканые разрастания и кровоизлияния, сопровождавшиеся появлением мелано-макрофагальных центров. Основные морфологические изменения в почках включали: отслоение эпителиальных клеток от базальной мембраны, блокаду канальцев клеточным детритом, изменение эпителиальных клеток почечного канальца до призматических (в норме – кубический), некроз гемопоэтической ткани и канальцев, дегенерацию гломерул, почечно-каменную болезнь (нефрокальцитоз), сопровождавшуюся разрастанием соединительной ткани вокруг канальцев. У некоторых особей соединительная ткань вытесняла практически всю почечную паренхиму, что трактуется как интерстициальный хронический нефрит, который неизбежно влечет дисфункцию органа (Silva, 2004). Патологическая картина в тканях почек усугублялась обширными кровоизлияниями в паренхиму, выявлено наличие мелано-макрофагальных центров и гранулем.

*Нефтяное загрязнение.* Нефтяное загрязнение является одним из наиболее распространенных видов антропогенного воздействия на водные экосистемы, а нефтепродукты относятся к разряду приоритетных загрязняющих веществ по критериям экологической опасности (токсичности, канцерогенности и распространенности). Широкий спектр действия нефтепродуктов объединяет развивающуюся икру и личиночные формы рыб (Миронов, 1972; Патин, 2001; Carls et al., 2002), угнетение темпов роста рыб (Александров, 1988; Казимов, 1988), разнообразные физиологические, биохимические и гистологические изменения (Simonato et al., 2008; Katsumiti et al., 2009), неопластическую трансформацию (Khan, 2003; Zang et al., 2003; Simonato et al., 2006). С воздействием веществ этой группы связано развитие в организме рыб окислительного стресса (Achuba, Osakwe, 2003; Stephensen et al., 2003; Zang et al., 2004; Sturve et al., 2006), изменения в уровне кортизола в плазме крови (Alkindi et al., 1996; Pacheco, Santos, 2001), снижение гемоглобина (Simonato et al., 2008).

В жабрах рыб в условиях нефтяного загрязнения на первый план выступали дегенеративные изменения: некроз, гемолиз эритроцитов и отек респираторного эпителия.

Нарушения кровообращения включали кровоизлияния, связанные с разрывом респираторных ламелл, аневризмы и гиперемии кровеносных сосудов. Изменения прогрессивного типа объединяли гипертрофию и гиперплазию клеток респираторного эпителия. Достаточно распространенным повреждением было разрастание соединительной ткани, приводящее к развитию фиброзов. Неопластические изменения характеризовались неконтролируемой пролиферацией малодифференцированных клеток эпителия респираторных ламелл. Помимо вышеперечисленных нарушений выявлены случаи заражения паразитарными амебами и инфузориями. Реакция организма рыб на присутствие паразитов различалась, инвазия амieb провоцировала развитие гиперпластических изменений, приводя к слиянию респираторных ламелл и образованию полостей; поражение инфузориями не вызвало каких-либо видимых изменений.

В печени рыб наиболее многочисленной была группа дегенеративных изменений: кариопикноз, очаговые некрозы, кистозное перерождение, интраваскулярный гемолиз эритроцитов и липоидная дегенерация, которая развивается вследствие нарушения жирового обмена в клетках и активации перекисного окисления липидов под воздействием токсичных веществ (Di Gulio et al., 1993; Ploch et al., 1999; Mohamed, 2001; Wolf, Wolfe, 2005). Выявлены нарушения кровообращения (кровоизлияниями, венозный стаз, наличие тромбов) и воспалительные реакции (инфильтрация лимфоцитами и мелано-макрофагальные центры). Гиперплазия и фиброз желчных протоков сопровождались блокадой протоков, а также изменениями выстилающего эпителия. Все патологические изменения развивались в комплексе с регенеративными процессами.

В почках диагностированы дегенеративные изменения (очаговый некроз почечной паренхимы, липоидная дегенерация, кистозное перерождение, массовый гемолиз эритроцитов), кровоизлияния, венозный стаз, разрастания соединительной ткани, воспалительные реакции (ММЦ, гранулемы, очаги лимфоцитарной инфильтрации) и появление новых нефронов. Выявлены признаки гломерулопатии (сжатие клубочка, увеличение боуменова пространства, расширение капилляров клубочка, пролиферация мезангиальных клеток) и тубулопатии (вакуолизация эпителия, блокада канальцев, разрастание соединительной ткани, дегенерация канальцев). Почечные канальцы большинства рыб были инфицированы спорами микроспоридий.

*Эвтрофирование* водоемов, сопровождающееся активной вегетацией водорослей и выделением природных токсинов, представляет серьезную угрозу для водных экосистем. Качество воды в водных объектах Северо-Запада России в значительной степени зависит от активной вегетации цианобактерий (синезеленых водорослей), синтезирующих цианотоксины двух типов – нейротоксины и гепатотоксины (Белякова и др., 2006; Chorus, Bartram, 1999; Hudnell, 2008), которые попадая в организм, вызывают патологии печени (Chorus, Bartram, 1999; Zeck et al., 2001). У рыб оз. Холмовское жабры в меньшей степени по сравнению с печенью и почками были подвержены воздействию. В жабрах с высокой частотой диагностировались изменения пролиферативного типа – гипертрофия и гиперплазия эпителия. Наиболее обширной была группа

нарушений кровообращения: гиперемия сосудов филамента и респираторных ламелл, аневризмы и кровоизлияния. Отеки респираторного эпителия, некроз эпителиальных клеток и деструкция респираторных ламелл выявлены у половины особей.

В печени диагностированы пренеопластические изменения: очаги базофильных и осветленных клеток, гиперплазия желчных протоков. Наиболее широкое распространение получили дегенеративные изменения (кариопикноз, некроз, липоидная и кистозная дегенерация печени, интраваскулярный гемолиз эритроцитов). Воспалительные реакции были представлены преимущественно небольшими очагами инфильтрации лимфоцитами и меланинсодержащих макрофагов. В редких случаях в паренхиме органа наблюдались очаги регенерации клеток. Изменения в структуре желчных протоков характеризовались фиброзом и пролиферацией. В большинстве случаев холангиофиброз сопровождался блокадой желчных протоков, кариопикнозом и слущиванием эпителиальных клеток.

Спектр патологий почек включал аномалии канальцев (вакуолизация, отложение эозинофильных масс в эпителии и просвете канальцев, блокаду канальцев клеточным детритом, кариопикноз и некроз эпителия канальцев); клубочков (дегенерация клубочка, расширение капилляров и пролиферация мезангиальных клеток) и интерстициальной ткани (кровоизлияния, липоидная дегенерация, очаги некроза, мелано-макрофагальные центры и структуры, характерные для процесса образования новых нефронов), более половины особей характеризовались фиброзным перерождением.

*Мультифакторное загрязнение урбанизированных водотоков* исследовано на примере рек Орзег, Лососинки и Волги. В р. Орзеге основными морфологическими изменениями в жабрах были: гиперплазия и отек респираторного эпителия, кровоизлияния, очаговый некроз, редукция респираторных ламелл и соединительнотканное разрастания. Диагностированы новообразования, процесс появления которых удалось проследить в динамике: раздвоение респираторной ламеллы, срастание с соседними ламеллами, пролиферация респираторного эпителия, некроз клеток (рис.6).

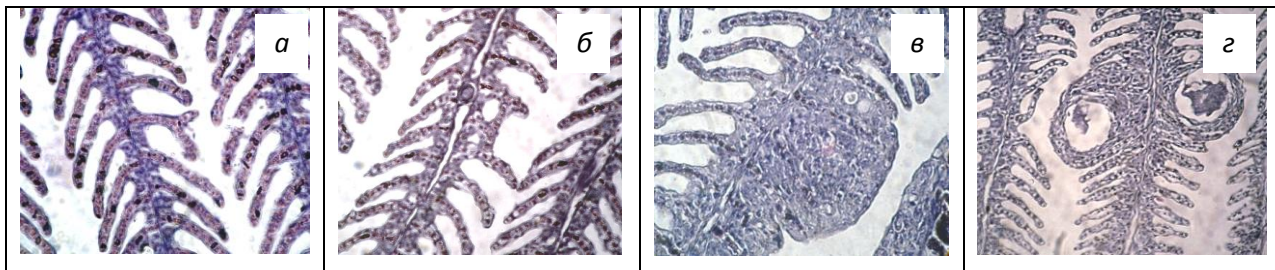


Рис. 6. Стадии появления новообразования: а) раздвоение респираторной ламеллы; б) срастание соседних респираторных ламелл; в) нерегулируемое размножение клеток; г) некроз

В печени выявлено замедление кровотока, стаз, кровоизлияния в паренхиму, кариопикноз и некроз гепатоцитов, фиброз, гиперплазия желчных протоков, вакуольное перерождение; в почках – обширные кровоизлияния, некроз эпителия канальцев, жировая дистрофия, дегенерация гломерул, разрастание соединительной ткани.

Гистопатологическое исследование рыб р. Лососинки проведено в сравнительном аспекте у усатого гольца и бычка подкаменщика. В жабрах обоих видов выявлены кровоизлияния, аневризмы, гемолиз эритроцитов, отек, некроз, паразитарная инвазия; исключительно для усатого гольца были характерны фиброз, раздвоение филаментов, неопластическая трансформация. В печени – инфильтрация лимфоцитами и макрофагами, гемолиз эритроцитов, кариопикноз и некроз гепатоцитов, множественная паразитарная инвазия; фиброз желчных протоков, липоидная дегенерация, гепатоклеточная регенерация и неопластические изменения выявлены только у усатого гольца. В почках – массовый гемолиз эритроцитов, некроз почечной паренхимы и скопления макрофагов, отслоение канальцевого эпителия от базальной мембраны, фиброз, пикноз ядер нефроэпителия, признаки гломерулопатии, паразитарная инвазия; исключительно у усатого гольца – кровоизлияния, неопластическая трансформация, липоидная дегенерация, некроз канальцевого эпителия и новообразующиеся нефроны.

У рыб р. Волга основными морфологическими изменениями были: в жабрах – гиперплазия респираторного эпителия, слияние ламелл, венозный стаз, кровоизлияния; в почках – обширные соединительнотканые разрастания, липоидная дегенерация, некроз гемопоэтической ткани; в печени – фиброз, жировая и гидропическая дистрофии. В качестве факторов, способствующих развитию данной патологии, выделяют гепатотоксичные вещества и канцерогенные агенты: нефтяные углеводороды, диэлдрин, линдан, ПХБ (Couch, 1975; Mathur, 1975; Couillard et al, 1999).

Таким образом, у рыб, обитающих в условиях воздействия сточных вод ЦБП (Выгозеро, р. Северная Двина), в качестве доминирующих морфофункциональных изменений можно отметить вакуолизацию респираторного эпителия и гиперплазию респираторных, хлоридных и слизистых клеток (рис. 7), которая является довольно распространенной адаптивной реакцией рыб на данный тип воздействия (Pathan et al., 2010; Rascovic et al., 2010). По отношению к стокам медно-никелевых производств (р. Кета-Ирбэ, оз. Имандра) основной “орган-мишень” – почки, характерной особенностью которых была почечно-каменная болезнь, диагностированная ранее в Норило-Пясинской водной системе (Савваитова и др., 1995; Павлов и др. 1999; Решетников и др., 1999) и в водоемах Кольского п-ова (Лукин, Кашулин, 1991). По мнению ряда авторов (Thophon et al., 2003; Reebua et al., 2008) тяжелые металлы, соли ртути, урана, кадмия, меди относятся к нефротическим факторам, действующим непосредственно на экскретирующие клетки канальцев почек, вызывая подобные патологии.

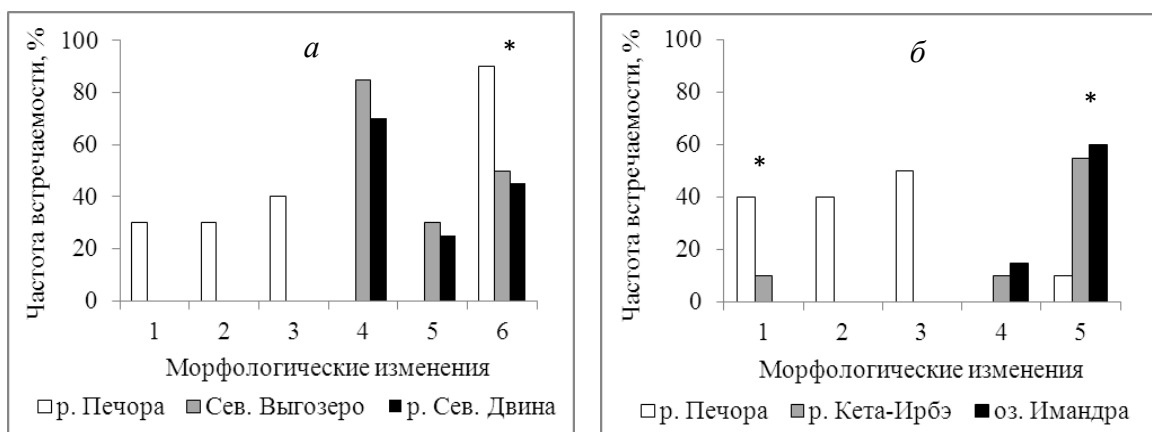


Рис. 7. Основные морфологические изменения в зависимости от приоритетного типа загрязнения: а) у язя (1 – неопластическая трансформация в жабрах, 2 – гиперплазия желчных протоков, 3 – кистозное перерождение, 4 – гиперплазия слизистых и хлоридных клеток, 5 – вакуолизация респираторного эпителия, 6 – вакуолизация эпителия канальцев); б) у сига (1 – неопластическая трансформация в жабрах, 2 – гиперплазия желчных протоков, 3 – кистозное перерождение, 4 – нефрокальцитоз, 5 – отслоение эпителия канальцев от базальной мембраны); \* – различия статистически достоверны

Неопластическая трансформация и пренеопластические изменения являются характерными патологиями при загрязнении нефтепродуктами, канцерогенность которых доказана в эксперименте и подтверждена натурными исследованиями (Boorman et al., 1997; Brand et al., 2001; Marty et al., 2003; Nero et al., 2006; Gabriel et al., 2007; Simonato et al., 2008; Silva et al., 2009; Rodrigues et al., 2010; Pal et al., 2011). В условиях эвтрофирования доминировали отеки респираторного эпителия, аневризмы, дегенеративные изменения в почках – признаки действия цианотоксинов (Palikova et al., 2004; Gupta, Guha, 2006; Ernst et al., 2007; Atencio et al., 2008).

Накопление ХОП, ПХБ и ПАУ в донных отложениях, воде и тканях рыб и морфофункциональные изменения. Взаимосвязь между содержанием загрязняющих веществ в донных отложениях и тканях рыб и патологиями демонстрирует корреляционный анализ. Выявлена достоверная взаимосвязь между концентрацией ПАУ в донных отложениях и индексами дегенеративных и воспалительных изменений в печени, а также индексами прогрессивных и дегенеративных изменений в почках рыб при высоких корреляционных коэффициентах (0,6-0,8), что подтверждается аналогичными исследованиями, указывающими увеличение риска развития некроза в печени в зависимости от содержания ПАУ в донных отложениях (Stehr et al., 1997). Корреляционный анализ достоверно отражает также влияние некоторых СОЗ на состояние организма рыб. В частности выявлена достоверная взаимосвязь между три-, тетра-, пента- и гекса-ПХБ в донных отложениях и индексом прогрессивных изменений в жабрах рыб (0,7), между три-ПХБ и индексом неопластических изменений в жабрах (0,5) и прогрессивных изменений в почках (0,5), а также между содержанием гексахлорбензола и суммарным содержанием гексахлорциклогексана в тканях рыб и нарушениями кровообращения в жабрах, воспалительными



и дегенеративными процессами в печени, при этом коэффициент корреляции Спирмена достаточно высок (0,6-0,8). Таким образом, результаты исследований по накоплению ПАУ, ПХБ и ХОП в донных отложениях, воде и тканях рыб показали, что данные вещества являются факторами риска при появлении морфологических изменений в организме рыб. Наши предположения базируются на результатах исследований, свидетельствующих о развитии гистопатологий под воздействием СОЗ и ПАУ у рыб различной видовой принадлежности (Кленкин и др., 2008; Гераскин, 2013; Srogi, 2007; Ondarza et al., 2009; Negreiros et al., 2011; Pal et al., 2011).

В природных водоемах достаточно проблематично диагностировать не только начальные стадии интоксикационного процесса, но и его развитие. Детальный анализ изменений на молекулярном и тканевом уровнях у рыб в условиях загрязнения позволил установить, что развитие морфологических изменений в организме происходит по каскадному принципу, начинаясь на внутриклеточном уровне, что нашло отражение в схеме (рис. 8).



Рис. 8. Каскад ответных реакций, итогом которого являются морфофункциональные повреждения клеток и тканей

Действие токсичных веществ, накопленных в тканях, осуществляется по двум направлениям:

1. Развитие токсического процесса. Активация ПОЛ, сокращение ПНЖК (за счет кислот  $\omega$ 3-ряда), которые являются основными субстратами для ПОЛ. В свою очередь дефицит  $\omega$ 3-жирных кислот приводит к дестабилизации мембран, деградации клеточного метаболизма и, как следствие, к развитию патологий в жабрах, печени и почках. Таким образом, ПОЛ опосредованно влияет на морфофункциональные изменения в тканях. Кроме того, высокая интенсивность ПОЛ является

коллагенстимулирующим фактором, вызывая активацию фибробластов, продуцирующих избыточные количества соединительной ткани и способствуя фиброзу перерождению. В этом случае соединительная ткань замещает функциональную паренхиму и выполнение органом специфических функций, возложенных на него, становится невозможным.

2. Мобилизация адаптивных ресурсов. Снижение содержания арахидоновой кислоты связано с ее расходом в процессе образования простагландинов, которые стимулируют пролиферацию гепатоцитов и способствуют регенерации печени.

## **Глава 6. Стереотипные и специфические ответные реакции рыб и их роль в системе биоиндикации**

Большое количество экзогенных повреждающих факторов, включаясь непосредственно в различные биохимические процессы клетки и межклеточных структур, вызывают в них морфологические и функциональные изменения, и одна из задач заключалась в дифференциации выявленных изменений по принципу стереотипности и специфичности. Изучение механизма повреждения органов и тканей рыб в водоемах Палеарктики позволило установить, что развитие морфологических изменений в организме происходит по «эстафетной» схеме. Каскад реакций запускается на молекулярном уровне с активации перекисного окисления липидов и заканчивается общей реакцией ткани печени и организма в целом. Возникающие при этом типовые неспецифические реакции клетки: нарушение барьерных свойств мембран → нарушение ионного баланса → нарушение биоэнергетических процессов → нарушение клеточных функций → морфологические изменения клеток, являются причиной неспецифических реакций тканей и организма в целом: воспаление, дистрофические изменения, нарушения кровообращения, которые складываются в клинко-анатомическую картину того или иного заболевания. Детальный анализ большого фактического материала по морфологическим изменениям органов рыб в водных объектах Палеарктики показал, что структурные изменения жаберного аппарата сходны с таковыми у рыб, обитающих в условиях воздействия тяжелых металлов (Coutinho, Gokhale, 2000; Oliveira Ribeiro et al., 2000; Cerqueira, Fernandes, 2002; Martinez et al., 2004; Figueiredo-Fernandes et al., 2007), органических загрязнителей (Engelhardt et al., 1981; Rosety-Rodríguez et al., 2002; Fanta et al., 2003), пестицидов (Ortiz, Gonzales et al., 2003), нефтяного загрязнения (Brand et al., 2001; Nero et al., 2006), высоких уровней аммония (Wedemeyer et al., 1976). Фиброз желчных протоков, некроз, вакуолизация цитоплазмы, большое количество мелано-макрофагальных центров – это характерные патологии печени, развивающиеся под воздействием широкого спектра токсических веществ (Pathan et al., 2010; Diniz et al., 2011). Дегенеративные изменения канальцев, атрофия клубочков, кровоизлияния, некроз и фиброз почек изучены у рыб под воздействием тяжелых металлов (Thophon et al., 2003), органических загрязняющих веществ (Veiga et al., 2002), мультифакторного техногенного влияния (Pacheco, Santos, 2002). Более того все эти реакции развиваются как при

кратковременном воздействии, так и при хроническом загрязнении (Bernet et al., 2000; Mondon et al., 2001; Triebkorn et al., 2002; Vaschenko et al., 2003; Stentiford et al., 2003; Broeg et al., 2005; Silva, Martinez, 2007; Greenfield et al., 2008; Koca et al., 2008). Следовательно, стереотипными (неспецифическими) ответными реакциями следует назвать те, которые независимо от причины и локализации протекают однотипно и свойственны для всех уровней организации: молекулярного, клеточного, тканевого, органного, системного.

Другая задача состояла в том, что все стереотипные ответные реакции встречаются в условиях патологии, но все ли они при этом являются патологическими? Повреждением, обусловленным непосредственным действием этиологического фактора, являются нарушения кровообращения, дистрофии, некроз, все последующие процессы представляют собой комплекс реакций организма, направленных на ликвидацию повреждений органов и тканей. В связи с этим, не смотря на то, что они сопровождают патологический процесс, они не носят исключительно патологического, регрессивного характера, а, напротив, являются прогрессивными, обеспечивающими организму восстановление здоровья. Поэтому их следует относить не к типовым патологическим процессам, а к типовым защитным, компенсаторно-приспособительным реакциям организма. В связи с этим, в настоящее время возникла необходимость классификации типовых реакций, которая дифференцирует процессы, отражающие патологическое явление от тех процессов, которые направлены на ликвидацию последствий этих повреждений.

Мы предлагаем в первую группу выделить типовые патологические реакции, которые представляют собой результат повреждения структур органов и тканей под влиянием разнообразных патогенных факторов: нарушения кровообращения (стаз, кровоизлияния, аневризмы); атрофия, дистрофии, некрозы. Вторую группу, по нашему мнению, должны составлять типовые компенсаторно-приспособительные реакции организма, с помощью которых он компенсирует повреждение, приспосабливается к вредным воздействиям и тем самым восстанавливает нарушенный гомеостаз: воспаление, регенерация, гиперплазия, гипертрофия. Но существует еще одна самостоятельная группа процессов, которую следует отнести к разряду специфических ответных реакций. Это опухолевый рост, который не имеет ничего общего с изменениями органов и тканей, встречающимися при различных болезнях в качестве их типовых реакций. Таким образом, модифицировав классификации, предложенные рядом авторов (Bernet et al., 1999; Nero et al., 2006) весь спектр морфологических изменений рыб, регистрируемых в водных объектах Палеарктики, мы объединили в три группы. Каждая группа реакций включает несколько изменений, затрагивающих отдельные функциональные единицы или орган в целом.

1. Типовые компенсаторно-приспособительные реакции – прогрессивные изменения, направленные на компенсацию функций поврежденного органа:

- гипертрофия – увеличение объема органа, ткани, клеток, сопровождающееся усилением их функций;
- гиперплазия – увеличение количества клеток и внутриклеточных структур;

- регенерация – это комплекс жёстко регулируемых физиологических процессов, направленных на осуществление правильной пролиферации клеток, а также восстановление нарушенной функции органа после его повреждения;
  - воспаление – процесс, характеризующийся в местах повреждения органа изменением кровообращения и повышением сосудистой проницаемости в сочетании с пролиферацией клеток.
2. Типовые патологические реакции – регрессивные изменения, следствием которых является ограничение функции или гибель органа:
- нарушения кровообращения (кровоизлияния, гиперемия, стаз, аневризма);
  - атрофия – уменьшение объема органа и снижение его функций;
  - дистрофия – нарушение трофики, комплекса механизмов, обеспечивающих метаболизм и сохранность структур клеток и тканей;
  - повреждения ядер (кариопикноз, кариорексис);
  - некроз – гибель отдельных клеток, участков тканей, части органа или целого органа.
3. Специфические ответные реакции – неоплазии (нерегулируемое размножение клеток, не достигающих созревания):
- доброкачественные;
  - злокачественные.

В основу предлагаемой классификации положен принцип целесообразности, все отклонения распределены в зависимости от того регрессивный или прогрессивный характер они носят, а также с учетом стереотипности и специфичности реакций, что позволяет использовать их в качестве биомаркеров в комплексной системе биоиндикации качества вод. В случае многофакторного техногенного воздействия определить преобладающий тип загрязнения на основе поставленного диагноза крайне проблематично, тем не менее, существует ряд патологий, по наличию которых можно делать предположения о качественном составе комплекса загрязняющих веществ и продолжительности негативного воздействия. Так, исключительно в водоемах, в которых в качестве приоритетных поллютантов выступают сточные воды ЦБП (Выгозерское водохранилище, р. Северная Двина), выявлены особи с гиперплазией слизистых, хлоридных клеток и вакуолизацией респираторного эпителия. Сравнительный анализ рыб, обитающих в водоемах, где приоритетными токсикантами являются производные нефтепродуктов (реки Печора, Лососинка, Южная часть Выгозерского водохранилища), выявил достоверные различия в доминировании рыб с неопластической трансформацией. В отношении загрязнения вод тяжелыми металлами (оз. Имандра и Норило-Пясинская озерно-речная система) в качестве органа-мишени могут выступать почки, в которых развивается почечно-каменная болезнь и отслоение эпителия канальцев от базальной мембраны. Продолжительность негативного техногенного воздействия также можно оценивать по ряду морфофункциональных изменений (табл. 5).

Таблица 5. Индикаторы продолжительности загрязнения

Признаки хронического загрязнения	Признаки острой токсичности
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Фиброзное перерождение</li> <li>• Кистозное перерождение</li> <li>• Некроз тканей</li> <li>• Воспалительные реакции</li> <li>• Дегенеративные изменения</li> <li>• Неопластическая трансформация</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Аневризмы</li> <li>• Кровоизлияния</li> <li>• Образование новых нефронов</li> <li>• Регенерация печени</li> <li>• Вакуолизация клеток</li> </ul>

Большая часть диагностированных морфологических изменений свидетельствует о том, что гидробионты в исследованных водных объектах подвергаются хроническому сублетальному воздействию, что подтверждается результатами по накоплению стойких загрязняющих веществ в донных отложениях и тканях рыб. В тоже время, ряд выявленных патологий указывает на острую реакцию организма рыб в ответ на вновь поступающие загрязняющие вещества в водные экосистемы. Так, образование новых нефронов в почках рыб является ранней ответной реакцией организма в стрессовых ситуациях, которая наблюдается в течение первых двух-четырех недель после воздействия и может продолжаться до двух месяцев (Reimschuessel, 2001). Вакуолизация эпителия почечных канальцев и репаративные процессы в печени также развиваются в острую фазу повреждения (Гарбузенко, 2001, 2008; Ortiz et al., 2003). Данные факты дают возможность предполагать, что на фоне хронического воздействия происходят спорадические локальные поступления токсичных загрязняющих веществ в исследуемые водные объекты.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Качество вод всех исследованных водоемов и водотоков в большой степени определяется веществами антропогенного происхождения. Рыбы представляют высший трофический уровень в водной экосистеме и являются наиболее чувствительными к изменению качества среды обитания среди всех представителей водной фауны. Кроме того, исходя из уровней организации водных экосистем, морфофункциональные изменения в организме рыб в условиях антропогенного воздействия интегрируются на более высоких уровнях организации (популяции, сообщество) и являются основой для их последующих преобразований. Они выражаются в изменении биохимического статуса, в патологических и компенсаторно-приспособительных реакциях, направленных на поддержание жизнедеятельности организма в ущерб пластическому росту и созреванию. Несомненно, одна из основных задач современности – это сохранение биологического разнообразия, но устойчивое функционирование популяций и сообществ невозможно без здоровых жизнеспособных особей, которые определяют качество других уровней биологической организации. Здесь уместно привести высказывание С.С. Шварца (1976) “чтобы не случилось в верхних этажах

природы, какие бы катаклизмы ни потрясли биосферу и составляющие ее биогеоценозы, высшая эффективность использования энергии на уровне клеток и тканей гарантирует жизнь организмам, которые и восстановят структуру жизни на всех этапах ее проявления в форме, наиболее соответствующей новым условиям среды”.

В процессе работы над проблемой здоровья рыб в водоемах Палеарктики мы опирались на концепцию биологических маркеров, согласно которой существует три категории биомаркеров: воздействия, эффекта и чувствительности, что способствовало пониманию причинно-следственных связей всех процессов, которые мы наблюдали в организме рыб в условиях загрязнения. В данном исследовании мы показали, что развитие морфологических изменений происходит по «эстафетной» схеме. Каскад реакций запускается на молекулярном уровне с активации перекисного окисления липидов, что приводит, в конечном итоге, к развитию патологий в жабрах, печени и почках, в основе которых дестабилизация клеточных мембран (Арчаков, Карузина, 1973; Блюгер, Новицкий, 1984; Воскресенский, 1986). Не менее важной являлась задача классифицировать все диагностированные морфофункциональные изменения по принципу стереотипности и специфичности. На большом фактическом материале (загрязнение сточными водами ЦБП, тяжелыми металлами, эвтрофирование, нефтяное и мультифакторное воздействие) мы показали, что все патологические и компенсаторно-приспособительные ответные реакции в организме рыб протекают по стереотипной неспецифической схеме, не зависящей от характера патогенного воздействия и локализации. Более того, универсальность ответа прослеживается как на тканевом, так и на молекулярно-клеточном уровнях, что позволило объединить все выявленные морфофункциональные изменения в группу типовых ответных реакций. Одновременно с этим, мы продемонстрировали ограниченность спектра реакций, которые создают все разнообразие заболеваний благодаря лишь своим различным комбинациям и сочетаниям. Полученные результаты нашли отражение в предложенной нами классификации, распределяющей все изменения в зависимости от того регрессивный (патологические процессы) или прогрессивный (компенсаторно-приспособительные процессы) характер они носят, а также с учетом стереотипности и специфичности.

Решение данных задач имеет большое прикладное значение не только в диагностическом, но и в экологическом аспекте. Опираясь на мировой опыт в области гистопатологических исследований, мы продемонстрировали, что существует ряд морфологических изменений на тканевом уровне, по наличию и частоте встречаемости которых можно оценивать: качественный состав комплекса загрязняющих веществ; продолжительность негативного воздействия; степень загрязнения; чувствительность рыб разной видовой принадлежности. Это определяет достоинства тканевых маркеров при оценке качества окружающей среды, однако в целях повышения эффективности биоиндикации, она должна базироваться, с нашей точки зрения, на междисциплинарном подходе и проведении комплексных исследований с применением гидрохимических, биохимических и других методов. Так, нами показано, что накопление СОЗ и ПАУ в донных отложениях, воде и тканях рыб может выступать в качестве фактора риска при

появлении патологических и адаптивных реакций в организме рыб. Поэтому в комплексной системе мониторинга на первом этапе с силу доступности целесообразно использовать гистологические индикаторы в качестве неселективного скрининг-теста. В случае же выявления специфических морфологических изменений, характерных для определенного типа загрязнения, актуальна реализация уже более трудоемких и дорогостоящих методов для установления причинно-следственных связей, возникающих закономерностей и понимания механизмов повреждения.

## ВЫВОДЫ

1. В водоемах европейско-сибирской области Палеарктики проведена ревизия видового состава рыб. Выявлено доминирование карповых, определяющих видовое разнообразие и формирующих ядро рыбной части сообщества. Установлено, что процесс формирования ихтиофауны активно продолжается за счет видов интродуцентов и самовселенцев.
2. Установлено соотношение концентраций хлорорганических пестицидов и их метаболитов, которое свидетельствует о продолжительности загрязнения. Так, соотношение концентраций ДДТ и продукта его деградации ДДЕ в тканях рыб (ДДТ/ДДЕ) существенно меньше 1, а соотношение концентраций изомеров гексахлорциклогексана ( $\alpha$ -ГХЦГ/ $\gamma$ -ГХЦГ) больше 1, что указывает на длительную циркуляцию этих веществ в водной экосистеме и хроническом загрязнении. Выявлено наличие в тканях рыб малоустойчивых изомеров ДДТ и гексахлорциклогексана, а также низкомолекулярных полихлорированных бифенилов, что является маркером недавних поступлений этих соединений в водоток.
3. Заболевания рыб, развивающиеся в условиях загрязнения, базируются на каскадном принципе ответных реакций организма. Начальным звеном цепи патогенетических механизмов является внутриклеточный уровень и молекулярные изменения, обуславливающие реакции клеток и тканей, которые складываются в клинко-анатомическую картину заболевания.
4. Выявлено увеличение интенсивности перекисного окисления липидов в тканях рыб в очагах загрязнения на фоне неизменной активности супероксиддисмутазы, что указывает на истощение ресурсов антиоксидантной системы в связи с хроническим воздействием неблагоприятных факторов. Определена видовая и тканевая специфичность в увеличении интенсивности перекисного окисления липидов и активации супероксиддисмутазы, показатели которых выше у сиговых по сравнению с карповыми видами.
5. Установлено сохранение коэффициента  $\omega_3/\omega_6$  у рыб, обитающих в условиях загрязнения, в пределах нормы, что носит адаптивный характер и обеспечивает сохранение биологических свойств мембран в изменяющихся условиях среды.

6. Выявлено, что развитие интоксикации, способствующее повреждению клеток и тканей, протекает одновременно с мобилизацией адаптивных реакций к действию токсичных веществ. В условиях хронического загрязнения процессы повреждения преобладают над компенсаторно-приспособительными реакциями.
7. Показано, что все патологические и компенсаторно-приспособительные ответные реакции в организме рыб в водоемах Палеарктики протекают по стереотипной неспецифической схеме, не зависимой от характера патогенного воздействия и локализации, включаясь в качестве патогенетического звена в заболевания. Механизм повреждения клеток универсален и заключается в интенсификации перекисного окисления липидов.
8. Выявлены особенности ответной реакции организма в зависимости от приоритетного фактора воздействия. В условиях загрязнения сточными водами целлюлозно-бумажной промышленности органом-мишенью являются жабры, характеризующиеся гиперплазией слизистых и хлоридных клеток, вакуолизацией респираторного эпителия. В отношении загрязнения тяжелыми металлами органом-мишенью являются почки, в которых доминируют дегенеративные изменения и развивается нефрокальцитоз. В условиях загрязнения нефтепродуктами отмечается неопластическая трансформация в организме рыб.
9. Доказано, что накопление ПАУ, ПХБ и ХОП в донных отложениях, воде и тканях является фактором риска при появлении патологических и компенсаторно-приспособительных ответных реакций в тканях рыб.



**Список основных публикаций по теме диссертации.**

**В рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК:**

1. **Шарова, Ю.Н.** Система воспроизводства сиговых рыб в условиях многофакторного загрязнения / Ю.Н. Шарова (Ю.Н. Лукина), А.А. Лукин // Вопросы ихтиологии. – 2000. – Т. 40, № 3. – С. 425-430.
2. Тойвонен, Л.В. Адаптационные изменения в спектрах жирных кислот тканевых липидов сига *Coregonus lavaretus* (L.) при влиянии антропогенных нагрузок / Л.В. Тойвонен, З.А. Нефедова, В.С. Сидоров, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина) // Прикладная биохимия и микробиология. – 2001. – Т. 37, № 3. – С. 314-317.
3. Тойвонен, Л.В. Влияние факторов антропогенного загрязнения на липидный состав икры сига *Coregonus lavaretus* (L.) / Л.В. Тойвонен, З.А. Нефедова, Т.Р. Руоколайнен, Л.В. Маркова, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина) // Вопросы рыболовства. – 2001. – Т. 1. – С. 291-295.
4. Лукин, А.А. Патологии генеративных органов самок сига оз. Имандра / А.А. Лукин, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина) // Вопросы ихтиологии. – 2002. – Т. 42, № 1. – С. 114-120.
5. Лукин, А.А. Оценка качества вод на основе гистологических исследований / А.А. Лукин, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина) // Водные ресурсы. – 2004. – Т. 31, № 4. – С. 481-486.
6. Моисеенко, Т.И. Экоотоксикологическая оценка загрязнения вод р. Волга / Т.И. Моисеенко, Н.А. Гашкина, А.Г. Покоева, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина) // Водные ресурсы. – 2005. – Т. 32, № 4. – С. 369-383.
7. Моисеенко, Т.И. Физиологические механизмы деградации популяций рыб в закисленных водоемах / Т.И. Моисеенко, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина) // Экология. – 2006. – № 3. – С. 287-293.
8. Лукин, А.А. Влияние промысла на состояние популяций сига (*Coregonus lavaretus* L.) / А.А. Лукин, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина), Б.Ф. Прищепа // Вопросы ихтиологии. – 2006. – Т. 46, № 3. – С. 370-377.
9. Moiseenko, T.I. Ecosystem and human health assessment to define environmental management strategies / T.I. Moiseenko, A.A. Voinov, V.V. Megorsky, N.A. Gashkina, L.P. Kudriavtseva, O.I. Vandish, A.N. Sharov, **J.N. Sharova** (Ю.Н. Лукина), I.M. Koroleva // Science of the Total Environment. – 2006. – Vol. 369. – P. 1-20.
10. Borovikova, E.A. Length variation in the mtDNA control region in *Coregonus lavaretus nelmuschka* from Lake Kubenskoye and related whitefish forms of northwest Russia / E.A., Borovikova, N.Yu. Gordon, **J.N. Sharova** (Ю.Н. Шарова), D.V. Politov // Advanced Limnology. – 2007. – Vol. 60. – P. 59-67.
11. Нефедова, З.А. Особенности состава тканевых липидов сига *Coregonus lavaretus*, обитающего в водоемах с разной техногенной нагрузкой / З.А. Нефедова, Т.Р. Руоколайнен, О.Б. Васильева, Н.Н. Немова, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина) // Вопросы ихтиологии. – 2007. – Т. 47, № 1. – С. 107-112.

12. Moiseenko, T.I. Ecotoxicological assessment of water quality and ecosystem health / T.I. Moiseenko, N.A. Gashkina, **J.N. Sharova** (Ю.Н. Лукина), L.P. Kudryavtseva // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2008. – Vol. 114. – P. 837-850.
13. Лукин, А.А. Оценка состояния организма рыб при загрязнении водных экосистем нефтепродуктами и отходами целлюлозно-бумажного производства / А.А. Лукин, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина), Л.А. Беличева // *Рыбное хозяйство*. – 2010. – № 6. – С. 47-52.
14. Lukin, A.A. Hydrocarbon products and their derivatives in fish of the Pechora River, North-Eastern European Russia / A.A. Lukin, **J.N. Sharova** (Ю.Н. Лукина), G.N. Christiansen, G.A. Dahl-Hansen, L.A. Belicheva // *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. – 2011. – Vol. 46. – P. 1035-1041.
15. Lukin, A.A. Assessment of fish health status in the Pechora River: Effects of contamination / A.A. Lukin, **J.N. Sharova** (Ю.Н. Лукина), L.A. Belicheva, L. Camus // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2011. – Vol. 74. – P. 355-365.
16. Zakharov, A.M. Overall changes in the fish species composition of the Kolva River catchment area / A.M. Zakharov, A.A. Lukin **J.N. Sharova** (Ю.Н. Лукина), G.N. Christiansen, G.A. Dahl-Hansen, L.A. Belicheva // *Journal of Applied Ichthyology*. – 2012. – Vol. 28. – P. 823–826.

#### **В коллективных монографиях:**

17. Моисеенко, Т.И. Антропогенная модификация экосистемы озера Имандра / Т.И. Моисеенко, А.А. Лукин, В.А. Даувальтер, Л.П. Кудрявцева, Б.П. Ильяшук, Л.И. Ильяшук, С.С. Сандимиров, Л.Я. Каган, О.И. Вандыш, А.Н. Шаров, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина), И.Н. Королева. – М.: Наука, 2002. – 401с.
18. **Шарова, Ю.Н.** Оогонез рыб Европейского Севера России при техногенном загрязнении / Ю.Н. Шарова (Ю.Н. Лукина), З.С. Кауфман, А.А. Лукин. – Петрозаводск. Изд-во КарНЦ РАН, 2003. – 129 с.
19. Лукин, А.А. Биоресурсы Онежского озера / А.А. Лукин, Д.Э. Ивантер, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина) и др. – Петрозаводск. Изд-во КарНЦ РАН, 2008. – 247 с.
20. Moiseenko, T.I. Volga River: Pollution, Water Quality, Toxic Contamination and Fish Health / T.I. Moiseenko, N.A. Gashkina, **J.N. Sharova** (Ю.Н. Лукина) // *River Ecosystems: Dynamics, Management and Conservation*. – NY.: Nova Science Publishers Inc., 2011. – P. 203-232.
21. Лукин, А.А. Ихтиофауна / А.А. Лукин, В.Я. Первозванский, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина), А.П. Георгиев // *Озера Карелии. Справочник*. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2013. – С. 56-66.

### **Публикации в других изданиях:**

22. **Шарова, Ю.Н.** Оценка качества вод на основе гистологического анализа рыб (на примере оз. Кенозеро) / Ю.Н. Шарова (Ю.Н. Лукина), А.А. Лукин // Материалы 1-й Всерос. науч. конф. «Кенозерские чтения». – Архангельск, 2003. – С.1-23.
23. Лукин, А.А. Патологии рыб, развивающиеся в условиях техногенного воздействия и стереотипность ответных реакций / А.А. Лукин, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина) // Матер. междунаро. конф. «Экологические проблемы Северных регионов и пути их решения». – Апатиты: КНЦ РАН, 2004. – С. 14-16.
24. Moiseenko, T. I. Bioindicators assessment for water quality and ecological health level of water reservoirs / T. I. Moiseenko, M-Ch. Wu, N.A. Gashkina, **J.N. Sharova** (Ю.Н. Лукина) // Taiwan-Russia bilateral symposium on water and environmental technology. – Teipei, 2005. – P. 1-14.
25. Лукин, А.А. Практическое использование правил любительского и спортивного рыболовства на Северо-Западе России / А.А. Лукин, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина), Б.Ф. Прищепа, С.С. Крылова // Матер. междунаро. конф. «Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера». – Сыктывкар, 2005. – С. 9-18.
26. **Шарова, Ю.Н.** Общепатологические и компенсаторные реакции рыб водоемов Северо-запада России при загрязнении / Ю.Н. Шарова (Ю.Н.Лукина), А.А. Лукин // IV Междунаро. конф. «Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера». – Вологда, 2005. – С. 19-21.
27. Лукин, А.А. Оценка качества вод на основе гистологического анализа / А.А. Лукин, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина) // Матер. междунаро. контактного форума по сохранению местообитаний в Баренцевом регионе. – Сыктывкар, 2006. – С. 118-122.
28. Lukin, A.A. Conversation of dwarf brown trout population / A.A. Lukin, **J.N. Sharova** (Ю.Н. Лукина) // First European Congress of Conversation Biology. – Hungury, 2006. – P. 256.
29. Лукин, А.А. Патологии рыб при афлотоксикозе / А.А.Лукин, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина) // Междунаро. конф. «Проблемы иммунологии, патологии, охраны здоровья рыб и других гидробионтов». – Борок, 2007. – С. 115-118.
30. Lukin, A.A. Consequences of heavy metal pollution on water ecosystems / A.A. Lukin, **J.N. Sharova** (Ю.Н. Лукина), V.A. Dauvalter // Russia-Canada bilateral workshop «Influence of coper-nikel industry on environment». – Krasnoyarsk, 2008. – P. 112-114.
31. Лукин, А.А. Комплексная система биоиндикации водных объектов в условиях разнотипного антропогенного воздействия / А.А. Лукин, Н.М. Калинкина, М.Т. Сярки, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина) // Матер. III всерос. конф. по водной токсикологии «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы» и конференции по гидроэкологии «Критерии оценки качества вод и методы нормирования антропогенных нагрузок». – Борок, 2008. – С. 68-71.

32. Лукин, А.А. Возможные последствия нефтяного загрязнения в бассейне р. Печоры / А.А. Лукин, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина), А.П. Новоселов // Четвертая международ. конф. «Газ и нефть Арктического шельфа». – Мурманск, 2008. – С. 150-153.
33. Лукин, А.А.. Экологические проблемы р. Печоры: прошлое, настоящее, будущее / А.А. Лукин, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина), А.П. Новоселов, И.И. Студенов, А.Б. Захаров // Международ. конф. «Эко-Печора». – Нарьян-Мар, 2008. – С. 118.
34. Lukin, A.A. Fish pathology of Northwestern Russia / A.A. Lukin, **J.N. Sharova** (Ю.Н. Лукина) // Aquatic Animal Health. III Bilateral Conference between USA and Russia. – Shewperdstown, West Virginia, 2009. – P. 12-18.
35. Lukin, A.A. Assessment of fish health status under long-term oil pollution of the Pechora river / A.A. Lukin, **J.N. Sharova** (Ю.Н. Лукина), L.A. Belicheva // Diseases of Fish and Shellfish. 14th EAFP International Conference. – Prague, 2009. – P. 14-15.
36. **Шарова, Ю.Н.** Ответная реакция организма рыб на хроническое нефтяное загрязнение (на примере реки Печоры) / Ю.Н. Шарова (Ю.Н. Лукина), Л.А. Беличева // Водная среда: обучение для устойчивого развития. – Петрозаводск, 2010. – С. 143 – 148.
37. Беличева, Л.А. Ответные реакции организма на загрязнение вод стоками ЦБК / Л.А. Беличева, **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина) // Матер. 1 международ. научно-практической конф. «Беккеровские чтения». – Волгоград, 2010. – С. 201-203.
38. Belicheva, L.A. Assessment of fish health status under long-term water pollution: Vygozero reservoir, north-west Russia / L.A. Belicheva, **J.N. Sharova** (Ю.Н. Лукина) // Environment. Technology. Resources: proceedings of the 8<sup>th</sup> International Scientific and Practical Conference. Volume II. – Rezekne, 2011. – P. 368-373.
39. **Шарова, Ю.Н.** Оценка качества вод малых рек урбанизированных территорий на основе использования биомаркеров / Ю.Н. Шарова (Ю.Н. Лукина), Л.А. Беличева, А.А. Лукин // Всероссийская конференция с международным участием «Экология малых рек в XXI веке: биоразнообразие, глобальные изменения и восстановление экосистем». – Тольятти, 2011. – С. 155-158.
40. **Sharova, J.N.** Urban rivers water quality assessment based on biomarkers / J.N. Sharova (Ю.Н. Лукина), А.А. Lukin, L.A. Belicheva // International conference “Water Quality 2012”. – Hangzhou. China, 2012. – P. 95-99.
41. **Шарова, Ю.Н.** Оценка качества вод малых рек урбанизированных территорий с использованием гистологических индикаторов / Ю.Н. Шарова (Ю.Н. Лукина), А.А. Лукин, Л.А. Беличева // Матер. всерос. конф. «Экологические проблемы Северных регионов и пути их решения». – Апатиты, 2012. – С. 125-129.
42. Лукин, А.А. Патологии рыб Северо-Запада России / А.А. Лукин, **Ю.Н. Лукина** (Ю.Н. Лукина) // Матер. IX Северного социально-экологического конгресса «Актуальные вопросы жизнедеятельности в экстремальных условиях». – Архангельск, 2013. – С. 129-137.

43. **Лукина, Ю.Н.** Сезонная динамика оогенеза сиг в субарктическом водоеме в условиях хронического антропогенного воздействия / Ю.Н. Лукина, А.А. Лукин // Матер. всерос. конф. «Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых видов рыб». – Тюмень, 2013. – С. 130-136
44. **Шарова Ю.Н.** (Лукина Ю.Н.). Мониторинг урбанизированных притоков Онежского озера (на примере р. Лососинка) по гидробиологическим показателям / **Ю.Н. Шарова** (Ю.Н. Лукина) Ю.Л. Сластина, С.Ф. Комулайнен, Л.А. Беличева, // Госдоклад о состоянии окр. среды РК в 2013 г. – 2013. – С. 176-179.
45. **Лукина, Ю.Н.** Водные объекты города Петрозаводска / Ю.Н. Лукина, Л.А. Беличева. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2013. – С. 130-140.

#### Список сокращений, используемых в диссертации

СОЗ – стойкие органические загрязняющие вещества	АОА – антиоксидантная активность
ХОП – хлорорганические пестициды	АОЗ – антиоксидантная защита
ПХБ – полихлорированные бифенилы	ПОЛ – перекисное окисление липидов
ПАУ – полициклические ароматические углеводороды	ДК – диеновые конъюгаты
ГХЦГ - гексахлорциклогексан	СОД - супероксиддисмутаза
	МДА-малоновый диальдегид
	ПНЖК - полиненасыщенные жирные кислоты